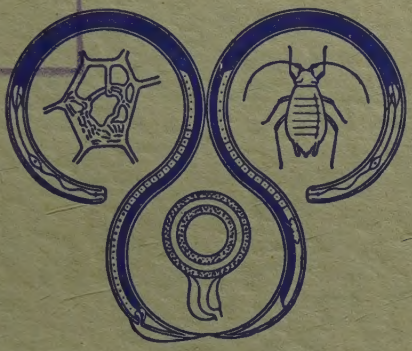
TIJDSCHRIFT OVER PLANTEZIEKTEN

E+A

COMMONWEALTH INST
ENTOMOLOGY LIBRARY
27 APR 1959
Eu. 86
SERIAL
SEPARATE

JAARGANG 65 - 1959

1e AFLEVERING



Uitgave van de

NEDERLANDSE PLANTEZIEKTENKUNDIGE VERENIGING

Onder Redactie van

Mej. H. L. G. DE BRUYN; Dr. H. H. EVENHUIS;
Dr. J. A. A. M. H. GOOSSENS; Prof. Dr. A. J. P. OORT; Mej. F. QUAK;
en Prof. Dr. J. P. H. VAN DER WANT (Secretaris)

Redactie-adres: Laboratorium voor Bloembollenonderzoek,
Heereweg 345*a*, Lisse

BESTUUR

VAN DE NEDERLANDSE PLANTEZIEKTENKUNDIGE VERENIGING

Dr. P. M. L. Tammes, Wageningen, *Voorzitter*
Ir. J. A. J. Veenenbos, Plantenziektenkundige Dienst, Wageningen, *Secretaris*
Dr. A. P. Kole, Lab. v. Phytopathologie, Binnenhaven 4, Wageningen, *1e Penningmeester*. Postrekening no. 923165 ten name van Penningmeester van de Nederlandse Planteziektenkundige Vereniging te Wageningen
Mej. F. Quak, Binnenhaven 4a, Wageningen, *2e Penningmeesteresse*
Dr. Ir. C. Mastenbroek, Hoofddorp
Prof. Dr. A. J. P. Oort, Wageningen
P. Smeding, Leeuwarden
W. Tuin, Zuidwolde

Lidmaatschap Ned. Planteziektenkundige Vereniging

Nederland, Suriname en de Nederlandse Antillen f 7,50, België f 7,50, Buitenland f 8,50. Leden ontvangen het tijdschrift gratis.

Abonnement Tijdschrift

Nederland, Suriname en de Nederlandse Antillen f 10,—, België f 10,—. Buitenland f 13,50 Betalingen op postrekening 923165 t.n.v. Penningmeester Ned. Planteziektenkundige Vereniging te Wageningen.

Advertentiën

Prijzen per plaatsing: ⅛ pag. f 12,50; ¼ pag. f 20,—; ½ pag. f 30,—; 1 pag. f 55,—.
Bij 3 maal plaatsen van dezelfde advertentie 10 procent korting.
Bij 6 maal plaatsen van dezelfde advertentie 20 procent korting.

Voor plaatsing wende men zich tot de secretaris der Redactie-Commissie, p.a. Heereweg 345*a*, Lisse, tel. 3747, of tot H. Veenman & Zonen N.V. - Wageningen, tel. 2242.

INHOUD

HOOFDARTIKELEN

J. KORT – Enkele waarnemingen over populatieschommelingen bij het havercystenaaltje, *Heterodera avenae*, onder invloed van enige gewassen op zandgrond. *With a summary: Some observations on soil population of cereal root eelworm*, Heterodera avenae, *under the influence of various crops on sandy soils* 1

H. J. PFAELTZER – Onderzoekingen over de rozetziekte van de kers. *With a summary: Some investigations on the rosette disease of cherry* 5

D. J. HAGEDORN, L. BOS and J. P. H. VAN DER WANT – The red clover vein-mosaic virus in The Netherlands. *Met een samenvatting: Het nerfmozaïekvirus van rode klaver in Nederland* 13

H. A. VAN HOOF – Bobbelblad bij sla. *With a summary: Lettuce big vein in The Netherlands* 24

M. C. KERSSEN and P. RIEPMA – The determination of residues of zinc ethylene bisdithiocarbamate. *Met een samenvatting: De bepaling van residu's van zinkethyleenbisdithiocarbamaat* 27

ACTUALITEITEN 33

VERENIGINGSNIEUWS 33

BOEKBESPREKINGEN

C. STAPP – Pflanzenpathogene Bakterien. Eine Einführung mit Hinweisen auf einschlägige bakteriologische und serologische Arbeitsmethoden. Paul Parey, Berlin (MAAS G.) 34

(Vervolg op pag. 3 omslag)

TIJDSCHRIFT OVER PLANTEZIEKTEN

Onder redactie van Mej. H. L. G. DE BRUYN; Dr. H. H. EVENHUIS;
Dr. J. A. A. M. H. GOOSSENS; Prof. Dr. A. J. P. OORT; Mej. F. QUAK
en Prof. Dr. J. P. H. VAN DER WANT (Secretaris)

Redactie-adres:
p/a Laboratorium voor Bloembollenonderzoek, Heereweg 345a, Lisse

Drukkers-Uitgevers: H. Veenman & Zonen – Wageningen

65e JAARGANG (1959)

T. Pl.ziekten 65 (1959): 1–4

ENKELE WAARNEMINGEN OVER POPULATIE-SCHOMMELINGEN BIJ HET HAVERCYSTENAALTJE, *HETERODERA AVENAE (= H.MAJOR)* ONDER INVLOED VAN ENIGE GEWASSEN OP ZANDGROND[1]

With a summary:

Some observations on soil population of cereal root eelworm, Heterodera avenae (= H.major) *under the influence of various crops on sandy soils*

DOOR

J. KORT

Plantenziektenkundige Dienst, Wageningen

INLEIDING

In 1955 werden in de loop van een oriënterend onderzoek naar het voorkomen van het havercystenaaltje in Noord-Limburg (KORT & S'JACOB, 1956) tevens enige waarnemingen gedaan over de veranderingen in de populatiedichtheid van dit aaltje in de grond onder invloed van de aldaar meest voorkomende gewassen.

Het is bekend dat het gewas een sterke en directe invloed kan uitoefenen op het aantal havercystenaaltjes in de grond. Na de teelt van niet-waardplanten daalt de populatie veelal sterk en na de teelt van waardplanten, de granen, wordt zij geacht op peil te blijven of te stijgen. Ook die granen die over het algemeen niet of minder van de parasiet te lijden hebben dan haver, zoals gerst, rogge en tarwe, worden ten aanzien van de aaltjesvermeerdering niet onschuldig geacht.

Uit de verrichte waarnemingen blijkt, dat tussen de waardplanten van het havercystenaaltje, de granen en grassen, onderling grote verschillen bestaan in de mate waarin zij de aantallen aaltjes beïnvloeden.

Gelijke resultaten zijn in Engeland verkregen door HESLING (1958a, 1958b, persoonlijke mededeling), die uit meerjarige en uitvoeriger proeven met verschillende graansoorten dezelfde conclusie heeft getrokken. Ook JONES & MORIARTY (1956) vermelden dat tarwe een andere invloed heeft op de aaltjespopulatie dan haver of gerst.

[1] Aangenomen voor publikatie 1 december 1958.

METHODIEK EN RESULTATEN

Van 54 in IJsselstein (L.) gelegen landbouwpercelen werd vóór en na de teelt van verschillende gewassen een grondmonster genomen, bestaande uit 60 regelmatig over het perceel verdeelde prikken op bouwvoordiepte. Dit monster werd goed gemengd, waarna hieruit twee mengmonsters van 200 ml op cysten, respectievelijk levenskrachtige cysten, werden onderzocht. De uitkomsten van beide monsters werden daarna gemiddeld. De bemonstering vóór het gewas werd uitgevoerd in maart, die ná het gewas in november 1955. De geteelde gewassen werden per perceel genoteerd.

TABEL 1. De invloed van verschillende gewassen op de besmettingsgraad van de grond met havercystenaaltje.
The effect of various crops on the population density in the soil of the cereal root eelworm.

Gewas *Crop*	Aantal percelen *Number of plots*	Gemiddelde besmettingsgraad van de grond p. 200 ml *Mean degree of infestation per 200 ml of soil*			
		vóór het gewas *before the crop*		na het gewas *after the crop*	
		cysten *cysts*	levende cysten *viable cysts*	cysten *cysts*	levende cysten *viable cysts*
aardappelen/*potatoes*	6	37,3	9,0	20,7	3,2
serradella	10	23,2	6,0	17,2	3,3
mais/*maize*	4	44,6	15,1	41,8	7,4
Engels raaigras/*perennial raygrass*	5	29,5	5,1	13,0	3,8
kropaar/*orchard grass*	3	3,5	1,8	2,3	0,3
kunstweide/*ley*	2	18,7	7,7	7,0	1,2
haver/*oats* (*spring-sown*)	6	28,1	9,6	28,6	9,1
rogge/*rye* (*autumn-sown*)	18	34,6	10,5	23,6	4,5

In tabel 1 zijn de uitkomsten per gewas samengesteld en gemiddeld.

DISCUSSIE

Het aantal cysten is na het gewas over het algemeen lager dan vóór het gewas, behalve na haver. Haver is ook het enige gewas dat het aantal levenskrachtige cysten op peil kan houden en is ongetwijfeld de beste waardplant van het havercystenaaltje. Dat bij haver geen sterke stijging van de gemiddelde besmettingsgraad optrad moet waarschijnlijk worden toegeschreven aan het feit, dat op een aantal van de bemonsterde percelen een zeer slecht gewas groeide, dat de populatie nauwelijks op peil kon houden. Na de niet tot de granen behorende gewassen daalde de besmettingsgraad. Overeenkomstig de resultaten van eigen potproeven, waarbij verschillende grassoorten en mais in met havercystenaaltje besmette grond werden geteeld, bleek de besmettingsgraad ook na mais, Engels raaigras, kropaar en kunstweide te zijn gedaald. Ook na de verbouw van rogge is de populatie belangrijk achteruit gegaan. Het bekende verschijnsel dat rogge weinig van dit aaltje te lijden heeft, of in elk geval minder dan de overige granen, blijkt dus samen te gaan met een reductie van de populatie in de grond. Uit de waarnemingen van HESLING bleek, dat bij herhaalde roggeverbouw op hetzelfde perceel de besmettingsgraad van de grond jaar op jaar terugliep.

CONCLUSIE

Op sterk met havercystenaaltje besmette bedrijven zal men het bouwplan zó moeten kiezen, dat schade aan granen, in het bijzonder aan haver, wordt vermeden. Men zal evenwel een uitgangsbasis voor het te kiezen bouwplan moeten hebben. Grondmonsteronderzoek van alle tot een bedrijf behorende percelen is de beste weg om gegevens hiervoor te verschaffen. Afhankelijk van de bedrijfsomstandigheden zal men in het algemeen een keuze kunnen doen uit de onderstaande driejarige vruchtwisselingen:

haver – rogge – rogge,
haver – rogge – aardappelen,
haver – twee jaar kunstweide/graszaadteelt.

Op de licht besmette percelen kan men met haver en op de matig tot zwaar besmette percelen het beste met het tweede genoemde gewas in deze reeksen beginnen. Men dient evenwel steeds in het oog te houden, dat na de verbouw van haver de besmettingsgraad van de grond meestal sterk toeneemt en het mogelijk is dat het door de minder goede waardplanten van het aaltje sterk gedrukte aaltjesniveau hierdoor weer tot de oorspronkelijke hoogte wordt teruggebracht. Naast de niet-waardplanten, zoals aardappelen, serradella en lupine, worden kunstweide, grassen en ook rogge als relatief gunstige voorvruchten voor haver gezien.

Bij de bovengenoemde vruchtwisselingen wordt bereikt dat de hoeveelheid granen op peil blijft, terwijl de kans op een mislukt havergewas zo klein mogelijk wordt gemaakt. In dit verband moet er op worden gewezen dat mengteelt van haver en gerst waarschijnlijk aan haver alleen kan worden gelijkgesteld.

De schrijver betuigt zijn dank aan de heer Ir. W. C. A. C. Franken, Rijkslandbouwconsulent voor Noord-Limburg, en zijn medewerkers voor de verleende hulp bij het verzamelen van bedrijfsgegevens en grondmonsters en aan de heer J. J. Hesling (Rothamsted Experimental Station, Harpenden) voor het tonen van zijn proefvelduitkomsten en het doornemen van de Engelse samenvatting.

SUMMARY

In the course of a survey of the occurrence of cereal root eelworm made in the province of Limburg in 1955, some observations were made on the population density of the nematodes before and after various crops, for although it was well known that non-host crops decreased the population, little information was available on the effect of different cereals and graminaceous crops on the eelworm numbers.

In 54 fields of farms at IJsselstein (Limburg) the pre- and postcropping nematode population was estimated by examining samples of 200 ml of soil in March and November 1955. Each sample consisted of 60 rods well distributed over the field. The results are summarized in table 1. Oats is an efficient host plant, but rye, some grasses and leys decrease the eelworm population and these may therefore be considered to be suitable crops to precede oats on infested land. Some rotations are suggested which may be suitable for infested fields, and which may help to avoid damage to oats in Limburg province.

HESLING, J. J., – 1958a. Heterodera major – population changes in the field and in pots of fallow soil. Nematologica 3:274–282.

HESLING, J. J., – 1958*b*. The efficiency of certain grasses as hosts of the cereal root eelworm Heterodera major. Pl. Path. 7:141–143.

JONES, F. G. W. & F. MORIARTY, – 1956. A preliminary experiment on the effect of various cereals on the soil population of cereal root eelworm, Heterodera major. Nematologica 1:326–330.

KORT, J. & J. J. s'JACOB, – 1956. Een oriënterend onderzoek naar het voorkomen van en de schade veroorzaakt door het havercystenaaltje (Heterodera avenae = H.major) in 1955. T. Pl.ziekten 62:7–11.

T. Pl.ziekten 65 (1959): 5–12

ONDERZOEKINGEN OVER DE ROZETZIEKTE VAN DE KERS[1]

With a summary:
Some investigations on the rosette disease of cherry

DOOR

H. J. PFAELTZER
Instituut voor Plantenziektenkundig Onderzoek, Wageningen

INLEIDING

In 1946 werd een virusziekte in zoete kers ontdekt in het dorp Eckelrade in Zuid-Limburg. Door MULDER (1951) werd deze ziekte beschreven onder de naam Eckelraderziekte. Er mag worden aangenomen, dat deze ziekte dezelfde is als de „Pfeffingerkrankheit", die in Zwitserland (BLUMER & GEERING, 1950) en Duitsland (KOTTE, 1951; KUNZE, 1953) voorkomt. Het lijkt echter beter om de ziekte de neutrale naam „rozetziekte" te geven. De rozetten vormen namelijk het laatste stadium van de ziekte en zijn er zeer karakteristiek voor. Het virus, mogelijk een complex van virussen, dat deze ziekte veroorzaakt, zal hier met „rozetvirus" worden aangeduid. Al eerder hebben anderen onafhankelijk van de schrijfster, dezelfde gedachte gehad: ADAMS & KESSLER (1958) en LEWIS (1958) beschreven de „rosette disease or Pfeffingerkrankheit" in zure kersen respectievelijk voor West Virginia en Pennsylvania. POSNETTE (1954) geeft de naam „cherry rosette" aan een virus, dat in de var. Schrecken een bontheid („mottle") te weeg brengt. Het is niet bekend of er verband bestaat tussen dit virus en de in dit artikel beschreven ziekte van de kers.

In het kort is het verloop van de ziekte als volgt. Eerst treft men bladeren aan, die scheefgegroeid zijn en een mozaïek vertonen van lichtgroene vlekken, de z.g. olievlekken, op het donkergroene blad. Deze vormen de primaire symptomen. Later treden de secundaire symptomen hoe langer hoe meer op de voorgrond: de groei wordt geremd, als gevolg waarvan rozetten aan de uiteinden van de takken ontstaan; de bladeren worden stijver, smaller en scherper getand; de nerven treden aan de onderzijde sterk naar buiten; soms zijn er uitwassen, enaties, aan de bladonderzijde te vinden en soms ook extraflorale nectariën.

Afhankelijk van de streek en het kerseras kunnen er variaties in het ziektebeeld optreden, die waarschijnlijk ten dele het gevolg zijn van het voorkomen van verschillende stammen van het virus.

Er is nog weinig over het rozetvirus bekend. Over de natuurlijke verspreiding en de mechanische overbrenging op kruidachtige planten zijn enkele onderzoekingen gedaan.

BESMETTING VIA DE GROND

In Zuid-Limburg heeft de besmetting van de kersebomen door de rozetziekte een ernstige vorm aangenomen en de ziekte breidt zich hier nog steeds uit. In Nederland zijn door enige onderzoekers proeven (niet gepubliceerd) gedaan om de verspreidingswijze te onderzoeken. De resultaten wijzen voorlopig in de rich-

[1] Ontvangen voor publikatie 8 december 1958.

ting van besmetting via de grond. De proeven, die EVENHUIS (Jaarverslagen Instituut voor Plantenziektenkundig Onderzoek (I.P.O.) 1954, 1955, 1956 en 1957) nam over insektenoverbrenging, bleven tot nu toe zonder resultaat.

Door de schrijfster (Jaarverslag I.P.O. 1957) werd in 1957 een proef opgezet, waarbij grote ijzeren vaten, gevuld met besmette en onbesmette aarde, in een grote kooi van glas en kaasdoek werden geplaatst. In elk vat werden drie gezonde zaailingen van Limburgse boskriek geplant. Voorlopig zij hier alleen vermeld, dat er in 1957 zeven proefplanten primaire symptomen gaven, waarvan er twee in augustus ook aan enkele bladeren uitwassen ontwikkelden. Over deze proef zal later worden gepubliceerd.

VIRUSOVERDRACHT OP KRUIDACHTIGE PLANTEN

Er is getracht het virus te determineren door het op kruidachtige planten over te brengen. Het gelukte MULDER (Jaarverslag I.P.O. 1956) een virus uit rozetzieke zoete kersen over te brengen op tabak (*Nicotiana rustica* en *N. tabacum* var. 787). Deze isolatie ging echter verloren.

KUNZE (1958) heeft een virus uit Pfeffingerzieke zoete kersen overgebracht op tabak en komkommer. Het virus, dat hij aldus isoleerde, was afkomstig van bomen uit verschillende streken van het Rijnland. Het virus kon in deze nieuwe waardplanten worden vermeerderd en van hieruit ook op andere kruidachtige waardplanten worden overgebracht. Het gelukte echter nog niet het virus in kersen terug te brengen.

Het onderzoek, dat KUNZE deed, loopt ongeveer parallel met de onderzoekingen, die hier beschreven zullen worden en waaruit eveneens blijkt, dat het mogelijk is een virus uit rozetzieke kersen op tabak en komkommer over te brengen.

METHODIEK VOOR DE OVERBRENGING

Voor het overbrengen van een virus uit kersen op kruidachtige planten werden een paar kersebladeren fijngewreven in een mortier, soms na toevoeging van een beetje water. Het moes werd onmiddellijk uitgestreken op de met carborundum bestrooide bladeren van de toetsplanten, waarna de planten met water werden afgespoeld.

Als toetsplanten werden jonge tabaksplanten var. White Burley en kiemplanten van komkommer var. Gele tros gebruikt in het stadium, waarin het eerste blad nog is dichtgevouwen. Hoge temperatuur verminderde de vatbaarheid van de toetsplanten. Door de planten één tot twee dagen vóór het inoculeren in donker te zetten werd de vatbaarheid van tabak verhoogd.

OVERDRACHT OP KRUIDACHTIGE PLANTEN

Verscheidene malen werd een virusoverdracht verkregen op komkommer en tabak of op één van beide; in enkele gevallen werd ook *Nicotiana rustica* gebruikt.

Virus werd geïsoleerd uit:

1. Bladeren van zoete kers (*Prunus avium* L.) met primaire of secundaire symptomen uit Gronsveld en Mook (natuurlijke infectie), uit de proefboomgaard te Wageningen (kunstmatige infectie) en uit kunstmatig geïnfecteerde zaailingen van Limburgse boskriek.

2. Bladeren van meikersen (*Prunus cerasus* L.) van enkele bomen te Gronsveld, die olievlekken vertoonden en een boom te Mook, die slechts minder goed groeide en een doorzichtige kruin had.
3. Bladeren van zaailingen, die één tot twee jaar in besmette grond hadden gestaan en die vervolgens primaire symptomen gaven.
4. Bladeren van zieke bomen of zaailingen, die gedurende enkele maanden bij — 20 °C waren bewaard.
5. Worteltjes van kunstmatig geïnfecteerde zaailingen.

In totaal werd in meer dan dertig gevallen een virusoverdracht verkregen. Het is moeilijk het percentage van slaging te bepalen, omdat hier zoveel factoren hun invloed op uitoefenen, o.a. de tijd van het jaar en de leeftijd van de bladeren. Wanneer men jonge bladeren met symptomen voor de inoculatie gebruikt kan het percentage van slaging vrij hoog zijn. KUNZE (1958) kreeg bij gebruik van knoppen voor inoculatie honderd procent slaging.

Vele van de isolaties gingen later verloren. De oorzaak hiervan is niet bekend. Het gelukte echter nooit een virus over te brengen, wanneer het inoculatiemateriaal afkomstig was van uiterlijk gezonde kersen. Aanvankelijk werd evenmin succes geboekt met de werkwijze van KUNZE, die zwellende knoppen, van hun knopschubben ontdaan, voor de inoculatie gebruikte. Maar in oktober 1958 lukte het toch om uit knoppen van een zieke boom virus op tabak over te brengen. Tien knoppen werden met 2 tot 5 ml water in een mortier fijngewreven en het moes werd direct op de tabaksbladeren uitgestreken. Er werd geen virusoverdracht verkregen, wanneer kersebladeren met kringvlekken („ring spot") als inoculatiemateriaal werden gebruikt.

Het virus, dat op tabak en komkommer is overgebracht, kan zich in deze waardplanten vermeerderen en met sap hiervan kunnen steeds nieuwe planten geïnfecteerd worden. De verschijnselen, die door het virus tevoorschijn worden geroepen, vertonen een sterke variatie, zowel wanneer het éénzelfde isolatie betreft, die steeds wordt overgebracht, als wanneer het om isolaties uit verschillende bomen gaat. Verschillende factoren, zoals de leeftijd van de toetsplanten, de temperatuur, de lichtintensiteit, de virusconcentratie in het inoculum, zullen hierbij van betekenis zijn. Het is niet onderzocht hoe groot de invloed van elk dezer factoren afzonderlijk is.

Tot nu toe zijn er nog geen resultaten verkregen met het terugbrengen van het virus in de kers, zodat het niet bekend is of dit virus de oorzaak is van het gehele beeld van de rozetziekte in de kers. Wel kan men, uitgaande van tabak of komkommer, een reeks van kruidachtige planten met dit virus infecteren. Een vergelijkend onderzoek naar de symptomen van de verschillende isolaties op deze waardplanten is nog niet verricht.

BESCHRIJVING VAN DE SYMPTOMEN OP VERSCHILLENDE KRUIDACHTIGE WAARDPLANTEN

De beschrijving berust op symptomen door één of enige virusisolaties teweeggebracht.

Nicotiana tabacum L. var. White Burley.

Na de inoculatie verlopen vier tot zeven dagen, voordat de eerste vlekjes te zien zijn. Het eerste stadium geeft een beeld van kleine chlorotische vlekjes, dicht opéén en samenvloeiend of verder uit elkaar gelegen. Iets later tekent zich

een wit kringetje in de vlekjes af, soms met een witte punt in het centrum, soms ook met twee concentrische kringen (fig. 1). De diameter van de kringen kan variëren van 2 tot 7 mm. Binnen de kring is het blad lichter gekleurd, de witte lijn is door een onscherpe, geelgroene rand omgeven. Soms worden de kringen necrotisch.

Het beeld van de spreidsymptomen is nog wisselender dan dat op de geïnoculeerde bladeren. Vaak zijn het enkele concentrische kringen hier en daar op de bladschijf. In de buurt van een nerf lopen ze even in de richting van de nerf mee. Ligt zo'n vlek aan de bladrand, dan vertoont deze op die plaats meestal een inbochting. Niet zelden zijn er meer kringen en heeft de virusontwikkeling de normale groei van het blad zodanig geremd, dat de bladschijf als gevolg hiervan is gaan opbobbelen (fig. 2). Een andermaal ontstaat er over het hele blad een fraaie tekening van evenwijdig lopende, grillige lijnen. Op de jongere bladeren worden de symptomen steeds minder duidelijk en de plant herstelt zich.

Cucumis sativus L. var. Gele Tros

De incubatietijd duurt bij de komkommer vier tot tien dagen. Op de zaadlobben verschijnen chlorotische vlekjes van 2 tot 3 mm in diameter, soms met een witte punt in het centrum; vaak zijn in de vlekjes kringetjes te onderscheiden. De spreidsymptomen geven een mozaïekbeeld, waarin een enkele maal ook kringen zijn te onderscheiden (fig. 3). Evenals de tabaksplant herstelt de komkommer zich na enige tijd.

Andere, hieronder te noemen waardplanten

In de meeste gevallen is de incubatietijd vijf tot tien dagen. De infectie is meestal systemisch en vaak treden spreidsymptomen op.

Nicotiana tabacum L. var. 787

De primaire symptomen zijn witte kringetjes. Er treedt zelden een kring op één of twee niet geïnoculeerde bladeren op.

Nicotiana rustica L.

De eerste verschijnselen zijn kleine witte kringen. De spreidsymptomen zijn meestal iets grotere kringen met een gelige rand, soms concentrisch. Vaak is de bladschijf opgebobbeld.

Nicotiana glutinosa L.

Slechts in een enkel geval verscheen een kringvormige vlek op het geïnoculeerde blad. In dat geval kon het virus in White Burley tabak worden teruggebracht.

Physalis floridana RYDB.

Kleine witte kringen en kromme lijntjes ontstaan zowel op de geïnoculeerde als op de jongere bladeren (fig. 4). Soms lijkt het beeld meer op een mozaïek.

Solanum lycopersicum L.

Onscherpe, chlorotische vlekjes verschijnen als primaire symptomen. Op de latere bladeren treedt een tekening van lijntjes op.

Solanum nigrum L.

Geen infectie.

S. tuberosum L. rassen Ackersegen en Eersteling

Geen infectie.

Chenopodium quinoa WILLD.

De primaire symptomen bestaan uit chlorotische vlekjes van 1 tot 2 mm in diameter, waarin een wit of een bruin kringetje is te onderscheiden (fig. 5). Op de jongere bladeren verschijnen ook chlorotische vlekjes, gevolgd door een verwelken van de hele top van de plant (fig. 5). Het gelukte niet het virus van *Chenopodium* terug te brengen op tabak var. White Burley.

Beta vulgaris L. ras Kuhn P.

Kleine witte vlekjes verschijnen zowel op de geïnoculeerde als op de jongere bladeren. Naderhand herstelt de plant zich. Het gelukte niet het virus op tabak terug te brengen.

Tetragonia expansa MURR.

Op de bladeren ontstaan vage gele vlekken, waarin soms een lichte kring is te zien. Er komen geen spreidsymptomen. Het is echter wel mogelijk het virus uit alle bladeren op tabak terug te brengen.

Gomphrena globosa L.

Op de geïnoculeerde bladeren verschijnen rode vlekjes of witte met een rode rand. Spreidsymptomen treden niet op, maar de infectie is wel systemisch. Het virus is weken later nog op tabak en *Nicotiana rustica* terug te brengen.

Phaseolus vulgaris L. var. Beka

Eenmaal heeft een plant gereageerd met bruine stippen op de geïnoculeerde, eerste bladeren en er zijn een paar malen spreidsymptomen op de jonge blaadjes verschenen: kleine, bruine stippen door een chlorotisch randje omgeven. Het virus kon hieruit terug worden gebracht op White Burley tabak.

Pisum sativum L. var. Unica

Geen symptomen en geen terugisolatie op tabak.

Vigna sinensis ENDL. var. California Black Eye

Geen symptomen en geen terugisolatie op tabak.

Raphanus sativus L. var. Ronde Scharlakenrode

Geen symptomen en geen terugisolatie op tabak.

Lactuca sativa L. var. Attractie

Op de geïnoculeerde bladeren verschijnen vrij grote, lichtgroene ringen, die het best bij doorvallend licht te zien zijn. Terugisolatie op tabak is niet geprobeerd.

Tropaeolum majus L. var. *nanum*

Enkele planten reageerden met zeer fijne, scherpe, witte kringen. Het gelukte niet om het virus hieruit terug te brengen op tabak.

Petunia hybrida hort. var. Fire Chief

Hierop kwamen geen symptomen met één uitzondering, toen er na drie weken spreidsymptomen optraden: grillige, lichtgroene lijntjes op de bladeren. Het is mogelijk het virus uit alle bladeren op tabak terug te brengen.

EIGENSCHAPPEN VAN HET VIRUS IN TABAKSSAP

In bevroren bladeren kan het virus enige tijd actief blijven, waarschijnlijk echter niet veel langer dan vier of vijf maanden.

In perssap van verse bladeren wordt het virus geïnactiveerd na verhitting bij 60 °–65 °C gedurende tien minuten.

Infectie treedt niet meer op in tabak, wanneer het sap meer dan honderd- tot duizendmaal wordt verdund.

HET ZUIVEREN VAN HET VIRUS UIT TABAKSSAP MET BEHULP VAN CENTRIFUGES

Het uit bevroren bladeren geperste sap werd door centrifugeren bij een betrekkelijk laag toerental (4000 tot 10.000 t.p.m.) van de vaste celbestanddelen gezuiverd. Hierbij ging wel wat van het virus verloren, want zowel de bovenstaande vloeistof als het neerslag waren infectieus. De vloeistof werd vervolgens gedurende 90 min. bij 35.000 t.p.m. gecentrifugeerd. In de bovenstaande vloeistof kon daarna geen virus meer worden aangetoond. Het neerslag kon met enige moeite in een fosfaatbufferoplossing worden gesuspendeerd. De virusconcentratie in de suspensie was hoger dan die van het oorspronkelijke sap.

Deze geconcentreerde suspensie kon nog verder worden gezuiverd door ze te centrifugeren in een dichtheidsgradiënt (Brakke, 1951) gedurende 90 min. bij 24.000 t.p.m. Het virus bleef dan in hoofdzaak achter in de lagen van 20 % en 30 % suiker in fosfaatbufferoplossing.

Een proef om met deze virussuspensies een antiserum te bereiden slaagde niet. Evenmin was het mogelijk om virusdeeltjes in deze vloeistof of in ruw plantesap met behulp van een elektronenmicroscoop waar te nemen.

NABESCHOUWING

Het is zeer waarschijnlijk, dat het uit kersebomen geïsoleerde virus in verband staat met de rozetziekte. Alleen uit bomen met deze ziekte kon een virus worden geïsoleerd, zowel uit zure kersen (*Prunus cerasus*) als uit zoete kersen (*P. avium* L.).

De wisselende symptomen op de toetsplanten kunnen een gevolg zijn van milieufactoren, maar ook van het voorkomen van verschillende virusstammen.

Het virus, dat door Kunze uit zoete kers werd geïsoleerd, is waarschijnlijk een ander, dan het door ons geïsoleerde virus of een andere stam. Kunze verkreeg nl. isolaties uit bladknoppen, waarbij hij een overdracht van honderd procent verkreeg. De isolaties van Kunze gaven voorts symptomen op *Nicotiana glutinosa* en op *Petunia hybrida*. De in dit onderzoek geïsoleerde stammen hebben op deze toetsplanten slechts bij hoge uitzondering spreidsymptomen veroorzaakt.

FIG. 1.

FIG. 2.

FIG. 1. Een virus uit een rozetzieke kers overgebracht op tabak var. White Burley. Symptomen op de geïnoculeerde bladeren.
A virus from a rosette diseased cherry transmitted to tobacco var. White Burley. Symptoms on the inoculated leaves.

FIG. 2. Een virus uit een rozetzieke kers overgebracht op tabak var. White Burley. Symptomen op de geïnoculeerde en de volgende bladeren.
A virus from a rosette diseased cherry transmitted to tobacco var. White Burley showing symptoms on the inoculated and the following leaves.

FIG. 3.

FIG. 4.

FIG. 3. Een virus uit een rozetzieke kers overgebracht op komkommer ras Gele Tros. Symptomen op de zaadlobben en spreidsymptomen op het eerste blad.
A virus from a rosette diseased cherry transmitted to cucumber var. Gele Tros. Symptoms on the cotyledons and spreadsymptoms on the first leaf.

FIG. 4. Spreidsymptomen van een virus uit een rozetzieke kers op bladeren van *Physalis floridana*.
Systemic symptoms of a virus from a rosette diseased cherry on the leaves of Physalis floridana.

Fig. 5. *Chenopodium quinoa* geïnoculeerd met een virus uit een rozetziekte kers. A. lokale symptomen, B. spreidsymptomen, C. gezonde plant.
Chenopodium quinoa *inoculated with a virus from a rosette-diseased cherry. A. local symptoms, B. systemic symptoms, C. healthy plant.*

SAMENVATTING

Er wordt voorgesteld om de ziekte in kersen, die in Nederland als „Eckelraderziekte" bekend is, voortaan „rozetziekte" van de kers te noemen.

Bij een proef, waarbij zaailingen van Limburgse boskriek van besmette grond uit waren geïnfecteerd, bleek dat enkele proefplanten behalve de primaire symptomen (olievlekken) ook secundaire symptomen op enige bladeren vertoonden (enkele enaties).

Het gelukte om uit rozetzieke bomen een virus over te brengen op tabak en komkommer. Het virus kan worden vermeerderd in deze waardplanten en kan van hieruit ook op een reeks andere kruidachtige waardplanten worden overgebracht. In tabakssap wordt het virus door verwarming bij 60°–65°C gedurende tien minuten geïnactiveerd. De verdunningsgrens van tabakssap, waarbij geen infectie meer optreedt, ligt tussen honderdmaal en duizendmaal.

Het virus is nog niet in kers teruggebracht.

SUMMARY

The virus disease of cherries which in The Netherlands is called the Eckelrader disease of sweet cherries (Mulder, 1951) is most likely caused by the same virus or viruses as the Pfeffingerkrankheit which is known in Switzerland (Blumer & Geering, 1950) and Germany (Kotte, 1951; Kunze, 1953). The name rosette disease is proposed here because it seems better than either of the former names. Adams & Kessler (1958) and Lewis (1958) have also used this name to describe similar diseases in West Virginia and in Pennsylvania respectively.

The primary symptoms in cherry are a sort of yellow and dark green mosaic, the so-called oil flecks, and asymmetrical growth of the leaves. The secondary symptoms are a rosetting at the end of the twigs, the most prominent feature of the final stage, and small, brittle leaves with sharply dentated margins, outstanding veins and occasionally some enations at the undersides.

The disease may be caused by one virus or by a complex of viruses. Preliminary investigations indicate that the disease is spreading through the soil. Healthy cherries planted in diseased soil showed primary symptoms after one winter. Later on also some small enations appeared on the leaves.

A virus could be transmitted from diseased sweet and sour cherries to White Burley tobacco plants and to cucumber seedlings. The leaves of diseased cherries were ground in a mortar, some water was added and the macerate was immediately rubbed onto the carborundum-powdered leaves of the test plants. As no virus could be transmitted from apparently healthy trees or from ringspot-diseased cherries, it seems evident that the isolated virus is the rosette virus or at least a part of the complex of viruses causing the rosette disease.

The symptoms in the herbaceous host plants varied considerably. To what extent these variations were due to circumstances or to different strains of the virus was not investigated. The symptoms appeared mostly four to eight days after inoculation. On tobacco small white, sometimes necrotic or concentric rings appeared on the inoculated leaves and concentric rings or line-patterns on systemically infected leaves. Cucumber seedlings showed small chlorotic spots on the cotyledons and a yellowish-green mosaic on the true leaves. Usually the plant recovered. The virus could be transmitted by mechanical inoculations of sap from cucumber and tobacco to other herbaceous plants;

these included: *Nicotiana rustica*, *Physalis floridana*, *Solanum lycopersicum*, *Chenopodium quinoa*, *Beta vulgaris*, *Tetragonia expansa*, *Gomphrena globosa*, *Tropaeolum majus*, and *Lactuca sativa*. Exceptionally symptoms appeared on *Nicotiana glutinosa*, *Petunia hybrida*, and *Beta vulgaris*. No transmissions were obtained to *Solanum tuberosum*, *S. nigrum*, *Pisum sativum* or *Vigna sinensis*.

In tobacco sap the virus was inactivated when held at 60°–65°C for ten minutes. No infection occurred on tobacco when the sap was diluted more than a hundred to a thousand times. Infective tobacco sap could be partly purified by differential centrifugation and by density gradient centrifugation. No specific particles could be detected in this virus suspension nor in sap with the aid of an electronenmicroscope.

LITERATUUR

Adams, R. E. & K. J. Kessler, – 1958. Rosette or Pfeffingerkrankheit on Montmorency sour cherry in West Virginia. Pl. Dis. Rep. 42: 568–572.

Blumer, S. & J. Geering, – 1950. Das Kirschbaumsterben im Baselland. Phytopath. Z. 42: 300–335.

Brakke, M. K., – 1951. Density gradient centrifugation: a new separation technique. J. Am. chem. Soc. 73: 1847.

Kotte, W., – 1951. Die Schmalblättrigkeit der Süsskirsche (Pfeffingerkrankheit) auch in Deutschland. Phytopath. Z. 17: 468–471.

Kunze, L., – 1953. Die Pfeffinger Kirschbaumkrankheit auch am Mittelrhein. Pflanzenschutz 5: 4–7.

Kunze, L., – 1958. Ein Virus der Tabak-Ringflecken-Gruppe von Süsskirsche. Phytopath. Z. 31: 279.

Lewis, F. H., – 1958. The Pfeffingerkrankheit or rosette disease in Pennsylvania sour cherry orchards. Pl. Dis. Rep. 42: 563–567.

Mulder, D., – 1951. De Eckelrader virusziekte van zoete kersen. Meded. Dir. Tuinb. 14: 217–228.

Mulder, D., – 1952. Een hypothese over de oorzaak van het verschil tussen primaire en secundaire symptomen bij de Eckelraderziekte van zoete kersen. T. Pl.ziekten 58: 21–24.

Mulder, D., – 1954. De overbrenging van een virusziekte van zure kers op komkommer. T. Pl.ziekten 60: 265–266.

Posnette, A. F., – 1954. Virus diseases of cherry trees in England. I Survey of diseases present. J. hort. Sc. 29: 44–58.

T. Pl.ziekten 65 (1959): 13–23

THE RED CLOVER VEIN-MOSAIC VIRUS IN THE NETHERLANDS[1]

Met een samenvatting:
Het nerfmozaïekvirus van rode klaver in Nederland

BY

D. J. HAGEDORN,[2] L. BOS and J. P. H. VAN DER WANT
Instituut voor Plantenziektenkundig Onderzoek, Wageningen

INTRODUCTION

The red clover vein-mosaic virus was first discovered and described by OSBORN (1937) in the United States. WEISS (1939) designated the virus as *Trifolium virus 2* OSBORN. HAGEDORN & HANSON (1951) established the relationship between this virus and the incitant of the "Wisconsin pea stunt" disease described by HAGEDORN & WALKER (1949).

GRAVES & HAGEDORN (1956) reported that the red clover vein-mosaic was very widespread in Wisconsin among several naturally occurring leguminous plants and also in hay fields and pastures which contained substantial amounts of red clover, *Trifolium pratense* L. Recently JAMALAINEN (1957) noted a disease in Finland similar to the red clover vein-mosaic. MATSULEVICH (1957) reported this disease in red clover in Ukraine, U.S.S.R. In a field survey of pea diseases in Western Europe made during the summer of 1957 HAGEDORN (1958) stated the occurrence of the virus in peas, *Pisum sativum* L., in The Netherlands, Switzerland, England and Sweden. QUANTZ (1958) observed the pea stunt disease in several pea growing areas in Western Germany and isolated the virus from red clover and peas. According to a survey of virus diseases by KOCHMAN & STACHYRA (1958) the red clover vein-mosaic is also present in Poland.

Symptoms produced by this virus in clovers in general are characterized by vein clearing and vein chlorosis often together with some chlorosis of very few irregularly bordered, adjacent leaf tissue ("vein mosaic"). Diseased peas also show such symptoms but more peculiarly are very much stunted in size, with the apical foliar and inflorescent growth malformed and congested into a terminal rosette. These very characteristic symptoms help immeasurably in field diagnosis of the virus. Pea plants with symptoms suspected of being those incited by the red clover vein-mosaic virus have been observed in The Netherlands for several years. In 1957, the senior author and Ir. N. HUBBELING observed such pea plants near Wageningen (HAGEDORN, 1958) and later in the growing season the authors discovered several red clover plants in the nearby vicinity showing typical symptoms of the vein-mosaic disease (fig. 1). These plants were taken to the greenhouse and eventually one (RK5) was chosen for more detailed study. The virus isolated from this plant has been compared with Wisconsin isolates. This paper reports the results of this study, which also includes a serological comparison with an American isolate. Also in 1958 the virus was isolated several times from red clover, peas and white clover, all naturally infected.

[1] Accepted for publication 1 December, 1958.
[2] University of Wisconsin National Science Foundation Senior Post-Doctoral Fellow.

The greenhouse studies were conducted at temperatures ranging from 18 to 23 °C under insect-proof conditions. No artificial light was used. The plants were grown in sterilized compost soil contained in either 4- or 6-inch clay pots.

Most of the experiments were carried out either two or three times in order to make results more meaningful. Appropriate controls were provided.

The physical property tests were conducted in a manner similar to that described by JOHNSON & GRANT (1932).

For the electron micrograph study, the microscope grids were covered with a thin layer of collodion. Virus-infected plant sap was applied to the grids in two different ways:

1. About 50 mg. of infected plant material was ground in a mortar together with 2.5 ml. of distilled water. The sap thus obtained in a dilution of about 1 : 50 and in a dilution of 1 : 100 was atomized onto the grids by using a pyrex nebulizer.
2. The cut-surface of a diseased leaf was dipped for 1 to 2 sec. in a small drop of distilled water on top of the grid according to the method developed by BRANDES (1957). Afterwards in most cases a suspension of about 0.01 % solids of polystyrene latex with calibrated particles of 340 mμ diam. was sprayed onto the grids to serve as a standard for the magnification of the electron microscope. We did not observe serious deviations in form and size as noticed by BRANDES & PAUL (1957). The grids prepared in this way were shadow cast with palladium, and viewed with a Philips electron microscope.

The plant sap used for producing an antiserum was prepared as follows. Sap from deep-frozen diseased peas was centrifuged for 20 min. at 10,000 r.p.m. The supernatant was then centrifuged for one hour at 39,460 r.p.m. on top of a 0.5 ml. layer of a 40 % sucrose solution. The resulting layer in the border region between the plant sap and the sucrose solution was used for injection. Inoculation experiments had shown that the bulk of the virus was present in this region. One rabbit was interveinously injected in the ear six times in total during two weeks with quantities of the virus concentrate gradually increasing from 1 to 5 ml. The blood was taken four days after the last injection. Another rabbit was injected four times in one week, each time with 2 to 5 ml. of the virus concentrate. Since the state of the ear did not permit further injections and the titer of the serum was still too low, 10 and 14 days respectively after the last injection an intramuscular injection with an emulsion of 2 ml. virus concentrate and 2 ml. of a mixture of paraffin- and lanolin oil was given in the upper hind leg according to the adjuvant technique described by FREUND (1947). This rabbit was bled seven days after the last injection. Serological tests were performed according to the method of the micro-reaction under paraffin oil developed by VAN SLOGTEREN (1955). The sap of diseased and of healthy deep-frozen peas to be tested was at first centrifuged for 30 min. at 10,000 r.p.m. in order to remove crude constituents. Before using the antiserum, this was mixed with sap of healthy peas. This mixture was stored during one night at 0 °C and then one hour at 25 °C and subsequently centrifuged for 20 min. at 15,000 r.p.m. The dilutions of both antiserum and plant sap were made with distilled water.

In the insect-transmission test pea plants, variety Mansholt's Pluk, were used

as a source of virus and as test plants. The aphid species tested were the green pea aphid, *Acyrthosiphon pisum* HARRIS, the green peach aphid, *Myzus persicae* SULZ., and the black bean aphid, *Aphis fabae* SCOP. After a starvation period of one hour, the feeding period on diseased plants varied from 5 min. to 1 hr. Then the aphids were transferred to the healthy test plants, five aphids per plant in the first preliminary trial, 10 to 15 aphids per plant in further experiments. On these plants they fed three to six days in the first trial and 24 hrs. in the further experiments. Then they were killed with an insecticide. The plants were kept under observation in the insect-proof greenhouse.

EXPERIMENTAL RESULTS

Host Range. Fourteen potential host plants were tested for their reaction to isolate RK5. The plants studied and results obtained are given in table 1 together with the reaction of the Wisconsin pea stunt isolate of the red clover vein-mosaic virus as reported by HAGEDORN & WALKER (1949) and HAGEDORN & HANSON (1951). In most cases, inoculations back to healthy peas were made to prove the presence of the virus.

These experiments indicate the RK5 virus isolate from The Netherlands has a host range which is identical to the host range reported for the red clover vein-mosaic virus isolates pea stunt and 101 studied in Wisconsin. Median red clover was not tested in Wisconsin but in our test it developed typical symptoms. According to HAGEDORN & WALKER (1949) in Wisconsin the Ladino white clover was found not to be susceptible. GRAVES & HAGEDORN (1956), however, were able to isolate the virus from naturally infected Ladino clover. It is significant to note that only legumes became diseased and that bean, *Phaseolus vulgaris* L., was not found to be a host.

By means of back inoculation from species previously inoculated with another isolate of the virus *Crotalaria spectabilis* ROTH., *Lathyrus odoratus* L., and *Ornithopus sativus* BROT. were shown also to act as host plants. They have not been recorded as such before.

Pea Varietal Reaction. Eighteen pea varieties, 11 from the United States and seven from The Netherlands, were tested for their reaction to the RK5 isolate of the red clover vein-mosaic virus. All varieties were susceptible. They included Alaska, Deep Green Perfection, Early Perfection, Freezer 37, New Era, New Season, New Wales, Perfected Wales, Superior, Surprise, Thomas Laxton, Koroza, Kreuk Erwt, Rondo, Servo, Unica, Vares, and Zelka. The results agree very favorably with those reported for American isolates of the virus.

Symptomatology. Greenhouse-grown red clover plants which were inoculated with virus isolate RK5 began to show the typical vein clearing symptoms about one month after inoculation. The intensity of vein chlorosis continued until, after about two more weeks, this symptom had developed into the characteristic conspicuous vein yellowing together with a slight vein mosaic (fig. 1). This was the dominant symptom noted and it was identical to the symptom previously observed on red clover plants inoculated with American isolates of the virus. Sometimes the leaves were slightly distorted. It was observed in the greenhouse that the symptoms in red clover often varied in severity during the development of the plant. Generally the plants appeared to suffer only slightly.

Diseased sweet clover, *Melilotus* spp. (fig. 1), white Dutch clover, *Trifolium*

TABLE 1. Host range studies with the red clover vein-mosaic virus.
Waardplantonderzoek met het nerfmozaïekvirus van rode klaver.

Host *Waardplant*		Reaction to isolate [1] *Reactie op isolatie*[1]	
Scientific name *Wetenschappelijke naam*	Common name *Naam*	Dutch RK5 *uit Nederland*	Wisc.Pea Stunt[2] *uit Wisconsin*[2]
Melilotus albus MED.	White Blossom Sweet Clover *witte honingklaver ras White Blossom*	+	+
Melilotus albus MED. var. *annua*	Hubam Sweet Clover *witte honingklaver ras Hubam*	+	+
Melilotus officinalis LAM.	Sweet Clover *gele honingklaver*	+	+
Phaseolus vulgaris L.	Bean *boon*	—	—
Pisum sativum L.	Pea *erwt*	+	+
Trifolium incarnatum L.	Crimson Clover *inkarnaatklaver*	+	+
Trifolium pratense L.	Median Red Clover *rode klaver ras Median*	+	0
———	Wis. Mildew Resistant Red Clover *rode klaver ras Wis. Mildew Resistant*	+	+
Trifolium repens L.	White Dutch Clover *Hollandse witte klaver*	+	+
Trifolium repens L. forma *giganteum*	Ladino Clover *Ladino witte klaver*	+	—
Vicia faba L.	Broad bean *tuinboon*	+	+
Cucumis sativus L.	Cucumber *komkommer*	—	—
Nicotiana glutinosa L.		—	0
Nicotiana tabacum L.	White Burley Tobacco *White Burley tabak*	—	—

[1] + = susceptible *vatbaar* — = not susceptible *niet vatbaar* 0 = not tested *niet getoetst*

[2] according to data published by HAGEDORN & WALKER (1949) and by HAGEDORN & HANSON (1951).
naar gegevens van HAGEDORN & WALKER (1949) *en* HAGEDORN & HANSON (1951).

repens L. (fig. 1), and Ladino white clover, *Trifolium repens* L. *giganteum*, showed only the vein chlorosis/vein mosaic symptom reported as typical of the red clover vein-mosaic virus on these hosts. This symptom, and also leaflet curling and plant stunt, were observed on diseased plants of crimson clover, *Trifolium incarnatum* L. These symptoms are considered typical of this virus on this host. Infected broad bean plants, *Vicia faba* L., showed a stunting of the top together with a distinct vein chlorosis (fig. 2). Generally these plants wilted after some time.

The red clover vein-mosaic virus incites a disease called "pea stunt" in the United States. This name is very descriptive of the over-all effect of this virus on pea plants which become infected when young. Pea plants developed this plant stunt upon inoculation with virus isolate RK5 (fig. 3). Other symptoms

reported for this virus on pea include 1. vein clearing and chlorosis, 2. downward curling of the leaflets and stipules, 3. failure of internodes to elongate properly resulting in the formation of an apical rosette of leaves, stipules, and sometimes blossoms, and 4. premature death. Most, if not all, of these symptoms were observed on almost all of the pea varieties which became infected upon inoculation with isolate RK5.

Physical Properties. The physical properties, tolerance to dilution, thermal inactivation, and resistance to aging, of isolate RK5 were studied in the laboratory and greenhouse. The dilution endpoint turned out to be between 1 : 1,000 and 1 : 10,000, whereas virus was still active after a ten minutes' exposure to 60° but not to 65°C. The aging *in vitro* studies were at first negative, even for one day aging but in later experiments once after one day aging virus was still active.

According to HAGEDORN & WALKER (1949) and HAGEDORN & HANSON (1951) the data for Wisconsin isolates are: dilution endpoint between 1 : 10,000 and 1 : 100,000, thermal inactivation point between 55° and 60°C, and aging *in vitro* between one and two days (HAGEDORN & WALKER) and two and three days (HAGEDORN & HANSON).

These results suggest a striking similarity between RK5 and the American (Wisconsin) isolates of the red clover vein-mosaic virus. In the dilution tests the difference is a slight one, infection with the American isolates at a dilution 1 : 10,000 being obtained only once in one plant (HAGEDORN & HANSON, 1951).

Electron Microscopy. The electron micrographs revealed particles consisting of thin, rigid rods (fig. 4). They were observed and studied in diseased pea, broad bean, red and white clover and in sweet clover.

In the first micrographs the distribution curves demonstrated two peaks (fig. 5B); often there were some smaller intermediate peaks (fig. 5 B, D, E). This suggested a relation between particles of different lengths and a tendency of the red clover vein-mosaic virus particles to break into two, three, four or sometimes more parts. This was supported by the observation that often a number of small particles, which together had the length of the assumed virus unit, were lying close together. The shorter particles were found in all host plants studied. So far the reason for this breakage is unknown. The method of applying the particles to the grids may play an important role. E.g. the sap used for making the preparations which produced the data represented in the curves B, D, and E (fig. 5) was prepared by grinding diseased plant material in a mortar and then sprayed onto the grids. The particles of C, on the other hand, were put onto the grids by means of the dip-method; in this way they were handled very carefully. Using the latter method there was less tendency to break or none at all. Curve A represents particle lengths in the electron micrographs of diseased sap pretreated as described on p. 14 and then mixed with normal serum (e.g. fig. 6, above). Using the dip-method in broad bean sap once there was also a clear tendency of the particles to aggregate to rigid threads of two or three times the assumed basic length (fig. 5C).

A summary of a number of particle length distributions is given in fig. 5. They show that the basic particle length is between 600 and 700 mμ. Since the reliability of our measurements is not high enough, we cannot calculate the standard length of the particles with great accuracy. The magnification of the electron microscope used was not always exactly the same, and polystyrene balls were not always added as a control. Moreover the image of the particles showed

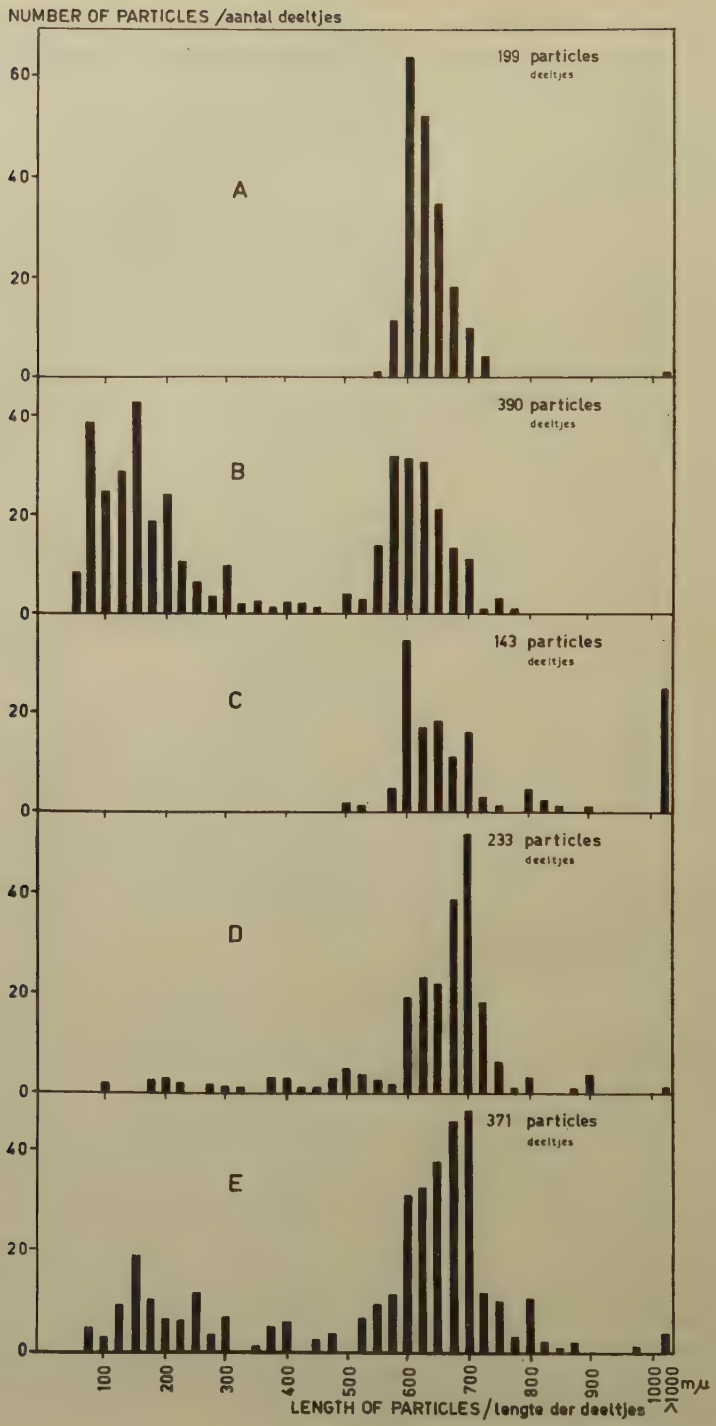

NUMBER OF PARTICLES /aantal deeltjes
199 particles
deeltjes
A
390 particles
deeltjes
B
143 particles
deeltjes
C
233 particles
deeltjes
D
371 particles
deeltjes
E
0
20
40
60
100
200
300
400
500
600
700
800
900
1000
>1000
mμ
LENGTH OF PARTICLES / lengte der deeltjes

FIG. 5.

FIG. 1. Symptoms produced by the Dutch isolate RK 5 of the red clover vein-mosaic virus on the leaves of red clover (upper row), white clover (middle row) and yellow sweet clover (lower row). Right, healthy leaves.
Symptomen veroorzaakt door de Nederlandse isolatie RK 5 van het nerfmozaïekvirus van rode klaver in de bladeren van rode klaver (boven), witte klaver (midden) en gele honingklaver (onder). Rechts, gezonde bladeren.

FIG. 5. Distribution curves of the lengths of specific particles present in different host plants infected with the red clover vein-mosaic virus; *A*, *B* peas, *C* broad bean, *D* red clover, *E* white clover.
Frequentiekrommen der lengten van de specifieke deeltjes voorkomend in verschillende plantesoorten besmet met het nerfmozaïekvirus van rode klaver; A, B *erwten*, C *tuinboon*, D *rode klaver*, E *witte klaver*.

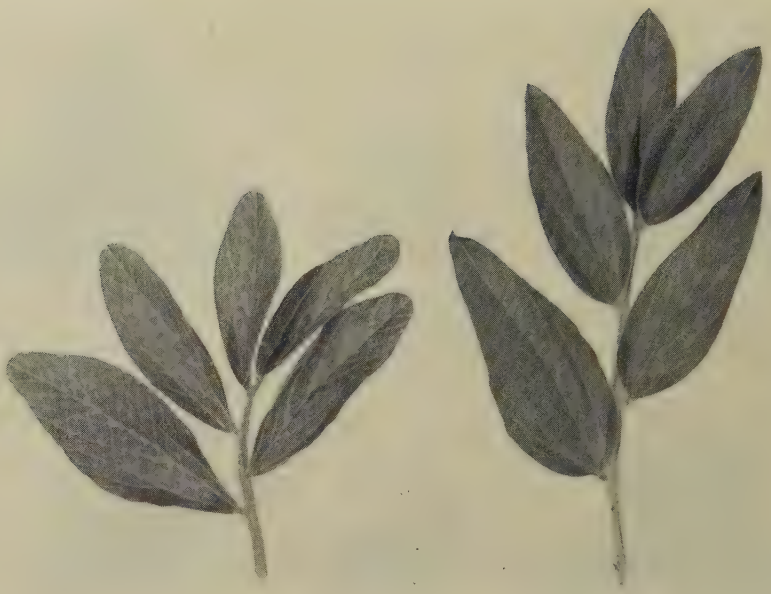


FIG. 2.

Symptoms produced by the Dutch isolate RK 5 of the red clover vein-mosaic virus on broad bean leaves. Left, diseased leaf; right, healthy leaf.

Symptomen veroorzaakt door de Nederlandse isolatie RK 5 van het nerfmozaïekvirus van rode klaver op de bladeren van tuinboon. Links, ziek blad; rechts, gezond blad.

FIG. 3.

Pea, variety Unica, with pea stunt caused by the Dutch isolate RK 5 of the red clover vein-mosaic virus. Left, diseased plant; right, healthy plant.

Erwt, ras Unica, met gedrongen top tengevolge van infectie met de Nederlandse isolatie RK 5 van het nerfmozaïekvirus van rode klaver. Links, zieke plant; rechts, gezonde plant.

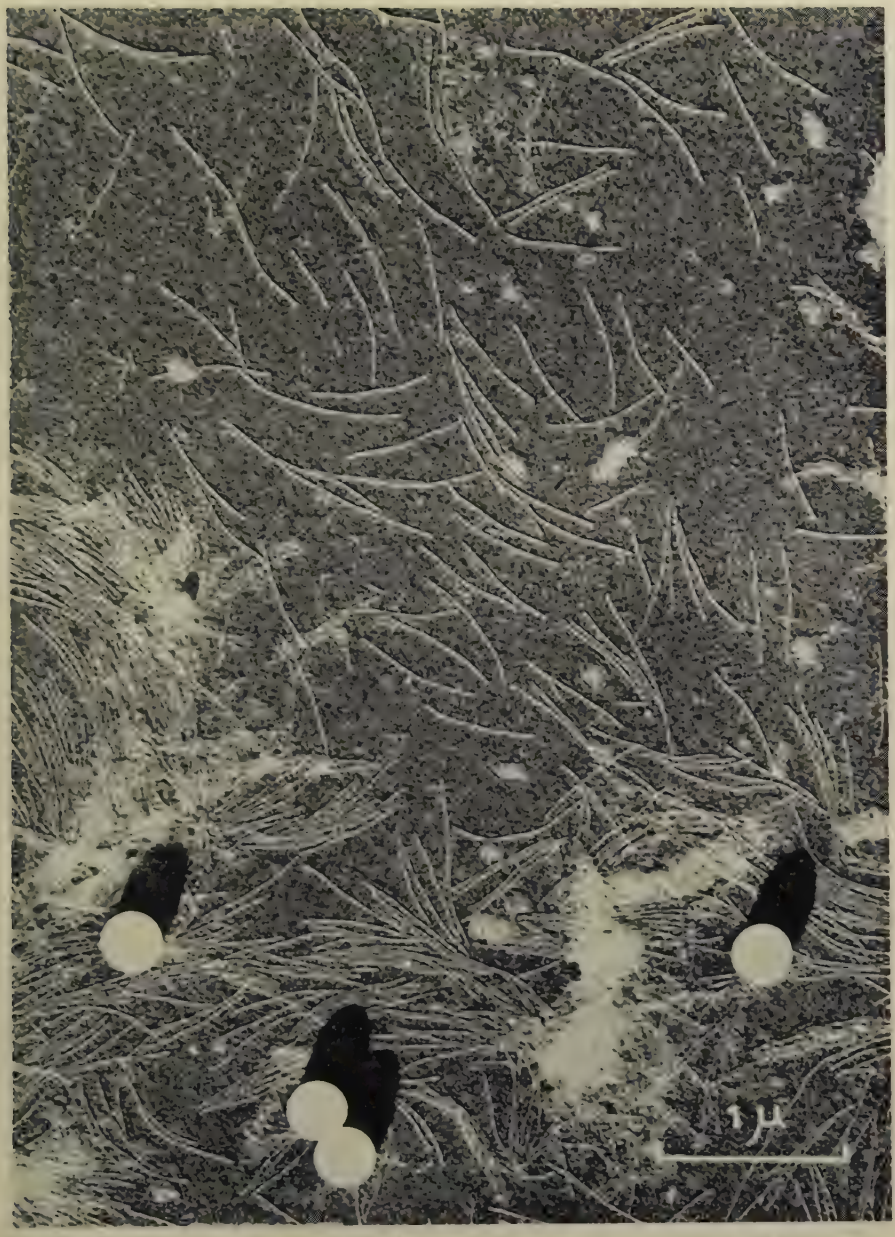


FIG. 4. Electron micrograph of the specific particles in pea infected with the red clover vein-mosaic virus; preparation made according to the dip-method. Magnification × 24,000. (Photograph made by the Physico-Technical Service for Agriculture, Wageningen.)

Elektronenmicroscopische opname van de specifieke deeltjes voorkomend in sap van een erwteplant besmet met het nerfmozaïekvirus van rode klaver; preparaat gemaakt volgens de indoopmethode. Vergr. 24.000 ×. (Foto gemaakt door Stichting Landbouw Fysisch-Technische Dienst, Wageningen.)

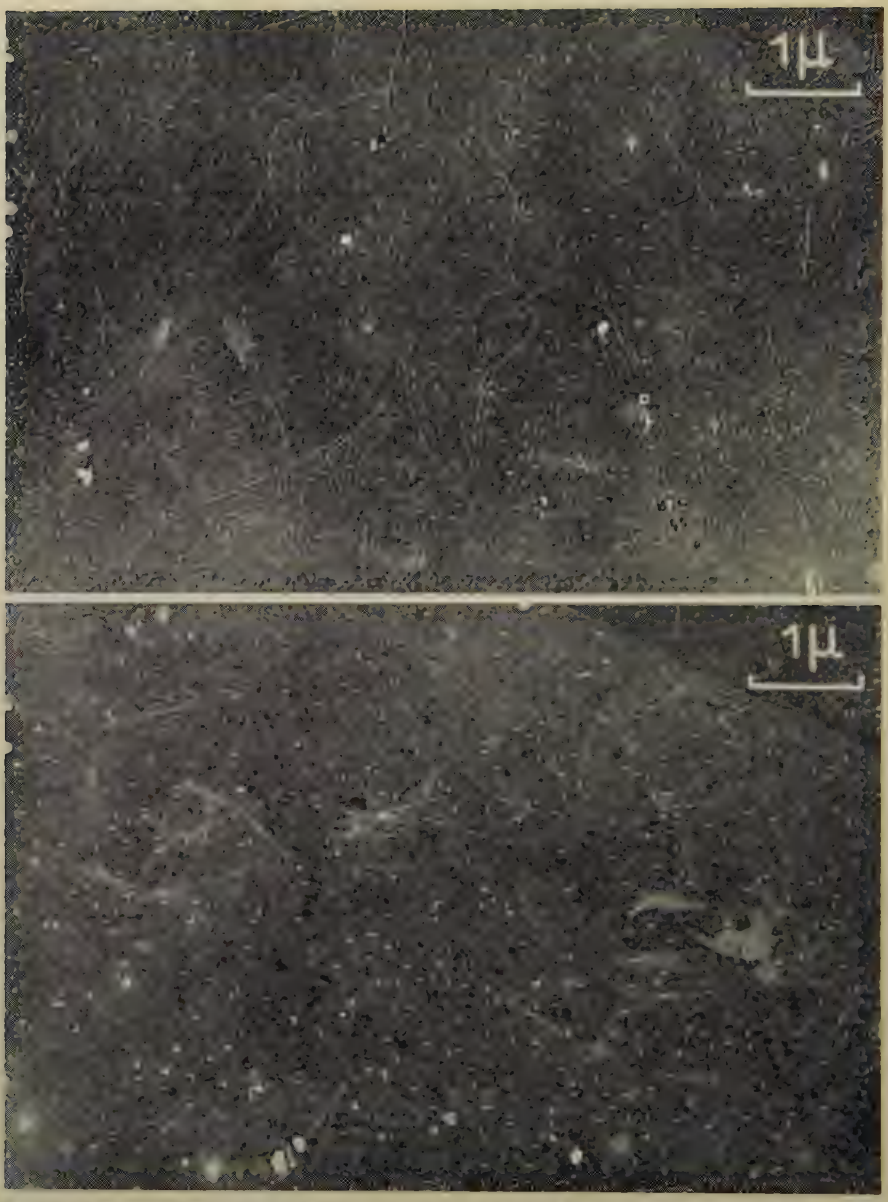


FIG. 6. Electron micrographs of the flocculating effect of the antiserum on the particles characteristic for the red clover vein-mosaic. Sap of diseased peas mixed with normal serum (above) and with antiserum (below). Magnification × 15,000. (Photographs made by the Physico-Technical Service for Agriculture, Wageningen.)

Elektronenmicroscopische opnamen van het uitvlokkende effekt van antiserum op de deeltjes, welke karakteristiek zijn voor het nerfmozaïek van rode klaver. Sap van zieke erwten gemengd met normaal serum (boven) en met antiserum (onder). Vergr. 15.000 ×. (Foto's gemaakt door Stichting Landbouw Fysisch-Technische Dienst, Wageningen.)

an aberation in dimensions which was more pronounced the greater the distance of the particles from the center of the field.

Serology. In testing the antiserum we used a mixture of antiserum and sap of healthy peas as a control. This sap and the sap of the infected plants was pretreated as described on page 14.

At first the antiserum was tested separately against the Dutch isolate and the Wisconsin isolate at Wageningen and Madison, Wisconsin, respectively. Both gave a clear positive reaction. To make results more meaningful and entirely comparable, the Wisconsin isolate of the virus sent to Wageningen and the Dutch isolate were tested simultaneously. The scheme and the results of this test are given in table 2. The serological reaction was positive and very clear.

TABLE 2. Reaction of the Dutch isolate RK 5 and a Wisconsin isolate of the red clover vein-mosaic virus with the antiserum prepared against the Dutch isolate.
Reactie van de Nederlandse isolatie RK 5 en een isolatie van het nerfmozaïekvirus van rode klaver uit Wisconsin met het antiserum bereid tegen de Nederlandse isolatie.

	dilutions of sap of peas *verdunningen van sap van erwten*	antiserum *antiserum*				normal serum *normaal serum*	saline *fysiologisch zout*
		1/4	1/16	1/64	1/256		
Dutch isolate RK 5 *Nederlandse isolatie RK 5*	1/4	+++[1]	++	++	—	—	—
	1/16	++	+	+	—	—	—
	1/64	—[2]	—	—	—	—	—
Wisconsin isolate *isolatie uit Wisconsin*	1/4	+++	+++	++	+	—	—
	1/16	++	++	+	—	—	—
	1/64	—	—	—	—	—	—
healthy pea *gezonde erwt*	1/4	—	—	—	—	—	—
	1/16	—	—	—	—	—	—
	1/64	—	—	—	—	—	—

[1] The number of + signs is an indication for the quantity of precipitate.
Het aantal + tekens is een maat voor de hoeveelheid precipitaat.
[2] No precipitate.
Geen precipitaat.

The results provide definite evidence that the Dutch isolate and the Wisconsin isolate are very similar.[1]

After these results pretreated sap of diseased and of healthy peas was diluted 1 : 4 and each put into two narrow glass tubes and mixed with the same quantity of a) antiserum and of b) normal serum, both diluted 1 : 4. After 30 min. at 37 °C only in the combination diseased sap with antiserum, was a serological reaction visible. Then the material in the tubes was diluted 1 : 2 and some of it sprayed onto grids and viewed in the electron microscope. The results are pictured in fig. 6. These electron micrographs clearly demonstrate that the anti-

[1] Dr. C. WETTER, Institut für Serologie, Biologische Bundesanstalt, Brunswick, Germany, to whom the authors are greatly indebted, was so kind to test their antiserum against the German pea stunt virus, "Stauchevirus der Erbse" (QUANTZ, 1958). The positive reactions obtained, demonstrate the relationship between the Dutch and the German isolates of the red clover vein-mosaic virus. In the same way a German antiserum, tested bij the authors against the Dutch RK 5, reacted positively.

serum has a flocculating effect on the particles characteristic for the red clover vein-mosaic and for pea stunt.

Insect Transmission. In a preliminary trial with the green pea aphid, *Acyrthosiphon pisum*, after one hour starvation and a subsequent infection feeding of half an hour and one hour, respectively, six out of eight and four out of eight plants were infected. The results of another experiment with three aphid species and varying infection-feeding periods are summarized in table 3. In a number of cases infection of test plants was checked by means of back inoculation to peas, variety Mansholt's Pluk.

TABLE 3. Insect transmission of the red clover vein-mosaic virus.
Overdracht van het nerfmozaïekvirus van rode klaver door insekten.

aphid *bladluis* / infection-feeding period *zuigtijd op besmette plant*	*Acyrthosiphon pisum*		*Myzus persicae*		*Aphis fabae*	
	plants infected / plants tested *geïnfecteerde planten / getoetste planten*	back inoculation *terug-inoculatie*	plants infected / plants tested *geïnfecteerde planten / getoetste planten*	back inoculation *terug-inoculatie*	plants infected / plants tested *geïnfecteerde planten / getoetste planten*	back inoculation *terug-inoculatie*
5 min.	2/8	+	0/8		0/8?	—
10 min.	2/8	+	1/8[1]	+	0/8	
15 min.	1/8[1]	+	0/8		0/8	
30 min.	0/8		0/8?	+	0/8	

[1] Presence of the virus was also proved by means of the electron microscope.
Aanwezigheid van het virus werd ook bewezen door middel van de elektronenmicroscoop.

The results obtained indicate that at least *Acyrthosiphon pisum* and *Myzus persicae* can act as a vector and that the virus is of the non-persistent type.

The ability of the pea aphid to transmit the virus was first demonstrated by OSBORN (1937). This aphid is also the vector in Wisconsin (HAGEDORN & WALKER, 1949; HAGEDORN & HANSON, 1951). According to GRAVES & HAGEDORN (1956) transmission of the virus by the small clover aphid, *Myzocallis ononidis* KALT., also might help to explain virus movement in the field.

DISCUSSION

The discovery of the red clover vein-mosaic virus in The Netherlands is important from several standpoints. It provides added evidence that individual plant viruses have a wide geographical distribution. The research reported here was done independently from the results of QUANTZ (1958) in Germany published recently. His publication and this one are the first known experimentally proven reports of the occurrence of this virus in Western Europe. HAGEDORN (1958) has previously reported field diagnosis of this virus in peas in The Netherlands, Switzerland, England, and Sweden. The presence of this virus in

The Netherlands means that there is the potential for the development of the pea stunt disease which is caused by the red clover vein-mosaic virus. In certain instances, this disease has been troublesome in Wisconsin.

The striking similarities between the results of experiments with the Dutch virus isolate RK 5 including studies of symptoms, host range, and serological tests, and those reported in the United States of America for the red clover vein-mosaic virus provide sufficient evidence for the conclusion that RK 5 is indeed the red clover vein-mosaic virus. The pea varietal reaction studies and the symptoms produced in these varieties also support this conclusion.

The relation of the Dutch and the American isolates of this virus to the German "Stauchevirus" (stunt virus) isolated from naturally infected peas and red clover (QUANTZ, 1958) is not entirely clear. There seem to be some differences. On a number of known host plants, such as broad bean, crimson clover, Ladino white clover and sweet clover, QUANTZ after mechanical inoculation, only observed a latent infection. Moreover in Germany in peas often top wilting and necrotic, "streak-like" symptoms appeared. Therefore QUANTZ suggested some relation with the "Wisconsin pea streak" virus. Only in a few cases in our greenhouse experiments with peas some internal necrosis of veinlets and stems was observed. The results of the German thermal inactivation test (complete inactivation between 60 and 65 °C) were similar to ours with the Dutch RK 5. The dilution endpoint of the German isolates however (between 1 : 100,000 and 1 : 1,000,000) is higher than of the Dutch isolate (1 : 1000–1 : 10,000) and the Wisconsin isolates (1 : 10,000–1 : 100,000). These facts suggest a slight difference between the virus, described by QUANTZ on one hand and those described in the U.S.A. and in this publication on the other hand.[1]

The electron microscope studies provided interesting and helpful information with regard to the morphology of the particles associated with red clover vein-mosaic virus infection. Noteworthy is the fact that the rigid rods easily break into smaller particles and sometimes aggregate into longer ones. Presumably the breakage can be prevented by making the preparations according to the dip-method.

This is the first known report on serological activity of the virus. Electron micrographs give clear evidence of the specificity of this reaction.

SUMMARY

The presence in The Netherlands of the virus of red clover vein-mosaic and pea stunt is proven for the first time. Experimental evidence to substantiate the identification of the virus is presented including data on host range, pea varietal reaction, symptomatology and physical properties. New artificial host plants are *Crotalaria spectabilis* ROTH., *Lathyrus odoratus* L., and *Ornithopus sativus* BROT.

This is the initial publication of electron microscope photographs of particles characteristic for the above mentioned diseases. They appear to have a length between 600 and 700 mμ, to be thin and rigid and to break easily into smaller rods.

An antiserum against the Dutch isolate of the virus was prepared. Both the

[1] Serologically the German isolate is related to the Dutch one, see footnote page 19.

Dutch and the Wisconsin isolate reacted similarly.[1] The flocculating effect of this antiserum on the virus particles was demonstrated and pictured by means of the electron microscope.

It was proven that the green pea aphid, *Acyrthosiphon pisum* HARRIS, and the green peach aphid, *Myzus persicae* SULZ., are able to act as vectors of the virus, and that the virus is of the non-persistent type.

SAMENVATTING

Het voorkomen van het nerfmozaïekvirus van rode klaver in Nederland werd bewezen. Dit virus is ontdekt in de Verenigde Staten van Amerika (OSBORN, 1937) en komt in Wisconsin zeer verspreid voor in verschillende gekweekte en wilde vlinderbloemigen (GRAVES & HAGEDORN, 1956). Het veroorzaakt daar tevens een ernstige ziekte in erwten, bekend als „pea stunt" (HAGEDORN & WALKER, 1949; HAGEDORN & HANSON, 1951). Ook in Oost Europa (JAMALAINEN, 1957; MATSULEVICH, 1957), in Duitsland (QUANTZ, 1958) en in Polen (KOCHMAN & STACHYRA, 1958) is het virus onlangs gerapporteerd. Het virus werd door ons in Nederland geïsoleerd uit natuurlijk geïnfecteerde erwten, rode klaver en witte klaver.

Op grond van onderzoek naar de waardplantenreeks (tabel 1), de ziekteverschijnselen (fig. 1 tot 3), de fysische eigenschappen en de serologie (tabel 2) wordt het in Nederland voorkomende virus identiek geacht met het Amerikaanse.

De symptomen in klavers variëren in het algemeen van een lichtere kleur van de nerven tot een zeer opvallende vergeling van nerven of nerfgedeelten en soms iets van het aangrenzende weefsel, waarom van nerfmozaïek wordt gesproken (fig. 1). Het ziektebeeld is zeer karakteristiek, maar vaak verdwijnen de symptomen tijdelijk geheel of ten dele. Tuinbonen reageren soms met een lichtgroene verkleuring van de nerven, terwijl de besmette planten enigszins gedrongen blijven (fig. 2). Vaak vertonen zij in het geheel geen symptomen. Aangetaste erwten vertonen overeenkomstige verschijnselen, maar hebben bovendien zeer opvallend gedrongen toppen („pea stunt"), waarin de bladeren en steunbladeren naar beneden gekruld en enigszins gekroesd zijn (fig. 3). De planten sterven vaak voortijdig af. Met het oog op de karakteristieke gedrongenheid van de toppen van aangetaste erwteplanten, wordt als Nederlandse naam voor deze ziekte bij de erwt voorgesteld: „gedrongen-topziekte van erwt". Alle 18 getoetste erwterassen bleken vatbaar te zijn.

Als nieuwe, tot dusver nog niet in de literatuur vermelde kunstmatige waardplanten werden gevonden: *Crotalaria spectabilis* ROTH., *Lathyrus odoratus* L. en *Ornithopus sativus* BROT.

Met behulp van de elektronenmicroscoop zijn karakteristieke, betrekkelijk dunne en stugge, staafvormige virusdeeltjes waargenomen (fig. 4) met een lengte tussen 600 en 700 mμ (fig. 5).

Voor het eerst werd een specifiek antiserum bereid tegen de Nederlandse isolatie van het virus. Dit antiserum reageerde op gelijke wijze met de Nederlandse isolatie en met die uit Amerika.[2] Het uitvlokkende effect hiervan op de

[1] See footnote page 19.

[2] Het desbetreffende antiserum gaf ook positieve reacties met het Duitse „Stauchevirus der Erbse" (QUANTZ, 1958). De schrijvers zijn Dr. C. WETTER, Institut für Serologie, Biologische Bundesanstalt, Brunswijk, Duitsland, zeer erkentelijk voor de uitvoering van deze serologische proef. Een door laatstgenoemde bereid antiserum bleek, bij toetsing door de schrijvers, met de Nederlandse isolatie van het virus, eveneens zeer duidelijk positief te reageren.

voor de ziekte karakteristieke deeltjes, werd met behulp van de elektronenmicroscoop afgebeeld (fig. 6).

In kasproeven werd aangetoond dat de erwtebladluis (*Acyrthosiphon pisum* HARRIS) en de perzikbladluis (*Myzus persicae* SULZ.) het virus kunnen overbrengen (tabel 3). Het virus is non-persistent.

Het nerfmozaïekvirus van rode klaver komt waarschijnlijk in Nederland meer voor dan tot dusver werd vermoed. Gegevens over de mate van voorkomen van de ziekte en de veroorzaakte schade ontbreken nog. Gezien de in Amerika opgedane ervaring wordt ook in ons land een toenemende mate van aantasting van erwten door dit virus mogelijk geacht.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors are greatly indebted to Mr. D. Z. MAAT for his permanent assistance and especially for preparing the antiserum. They also wish to express their appreciation to Miss Dra. C. VAN DER SCHEER and Mr. S. HENSTRA, Physico-Technical Service for Agriculture, Wageningen, for doing the electron microscopy.

REFERENCES

BRANDES, J., – 1957. Eine elektronenmikroskopische Schnellmethode zum Nachweis faden- und stäbchenförmiger Viren, insbesondere in Kartoffeldunkelkeimen. Nachr.-Bl. dtsch. Pfl.-Sch.-D. (Braunschweig) 9: 151–152.

BRANDES, J. & H. L. PAUL, – 1957. Das Elektronenmikroskop als Hilfsmittel bei der Diagnose pflanzlicher Virosen. Betrachtungen zur Vermessung faden- und stäbchenförmiger Virusteilchen. Arch. Mikrobiol. 26: 358–368.

FREUND, J., – 1947. Some aspects of active immunization. Ann. Rev. Microbiol. 1: 291–308.

GRAVES, C. H. Jr. & D. J. HAGEDORN, – 1956. The red clover vein-mosaic virus in Wisconsin. Phytopath. 46: 257–260.

HAGEDORN, D. J., – 1958. Some observations on diseases of Pisum sativum in several European countries in 1957. T. Pl.ziekten 64: 263–268.

HAGEDORN, D. J. & E. W. HANSON, – 1951. A comparative study of the viruses causing Wisconsin pea stunt and red clover vein-mosaic. Phytopath. 41: 813–819.

HAGEDORN, D. J. & J. C. WALKER, – 1949. Wisconsin pea stunt, a newly described disease. J. agric. Res. 78: 617–626.

JAMALAINEN, E. A., – 1957. On plant virus diseases and viruslike diseases in Finland (Finnish, with English summary). Publ. Finn. State Agric. Res. Board 158, 58 pp.

JOHNSON, J. & T. J. GRANT, – 1932. The properties of plant viruses from different host species. Phytopath. 22: 741–757.

KOCHMAN, J. & T. STACHYRA, – 1958. Beiträge zur Kenntnis der pflanzlichen Viruskrankheiten und virusverdächtigen Erscheinungen in Polen. Nachr.-Bl. dtsch. Pfl.-Sch.-D. (Berlin) 12: 41–50.

MATSULEVICH, B. P., – 1957. The effect of clover mosaics on the productivity of red clover (Russian). Agrobiology, Moscow 1957: 75–79 (Rev. appl. Myc. 36 (1957): 651).

OSBORN, H. Г. – 1937. Vein-mosaic virus of red clover. Phytopath. 27: 1051–1058.

QUANTZ, L., – 1958. Ein Beitrag zur Kenntnis der Erbsenvirosen in Deutschland. Nachr.-Bl. dtsch. Pfl.-Sch.-D. (Braunschweig) 10: 65–70.

SLOGTEREN, D. H. M. VAN, – 1955. Serological micro-reactions with plant viruses under paraffin oil. Proc. 2nd Conf. Potato Virus Diseases, Lisse–Wageningen, 1954: 51–54.

WEISS, F., – 1939. A key to the typical viruses of leguminous crops. Pl. Dis. Rep. 23: 352–361.

T. Pl.ziekten 65 (1959): 24–26

BOBBELBLAD BIJ SLA[1]

With a summary:
Lettuce big vein in The Netherlands

DOOR

H. A. VAN HOOF

Instituut voor Plantenziektenkundig Onderzoek, Wageningen[2]

INLEIDING

Deze ziekte, die in Amerika reeds in 1934 werd beschreven, is dit jaar ook in Nederland geconstateerd. Het is zeker een van de minder belangrijke ziekten van sla, maar daar de symptomen verward kunnen worden met die van het slamozaïek, is het gewenst om op de verschillen tussen beide ziektebeelden te wijzen en een kort overzicht te geven van wat er in de literatuur over bobbelblad („big vein") bekend is.

SYMPTOMEN

Bobbelblad. Bij jonge slaplantjes verschijnen de eerste symptomen pas indien er ongeveer zes blaadjes gevormd zijn. Deze symptomen bestaan uit een lichter worden van de nerven en de onmiddellijke omgeving ervan (fig. 1). De aangetaste blaadjes groeien niet zo sterk uit als normaal doordat de nerven in groei achterblijven. Het parenchym tussen de nerven groeit echter wel door, tengevolge waarvan het blad een sterk gebobbeld uiterlijk krijgt. Het parenchym blijft evenwel groen van kleur, terwijl er nooit necrose optreedt.

De bladeren van zieke planten staan stijver dan van gezonde planten. Kropvorming heeft wel plaats, hoewel het gewas minder fors is dan normaal en vooral het oudere buitenblad sterk in afmeting achterblijft. Bij de oudere planten overheerst het bobbelen van het blad en is het verkleuren van de nerven en van het omringende weefsel (vein banding) minder opvallend (fig. 2). Om deze redenen acht schrijver de naam „bobbelblad" het meest typerend voor het ziektebeeld.

Slamozaïek. Bij slaplanten, die door het slamozaïekvirus (*Lactuca virus 1*) zijn aangetast, blijft kropvorming achterwege wanneer de aantasting in een jong stadium optreedt. Er wordt dan slechts een open roosje gevormd. De bladverkleuring, die het virus bij deze jong aangetaste, vaak reeds uit het zaad besmette planten veroorzaakt, verschilt duidelijk van die van bobbelblad. Bij mozaïek overheerst een bonte gevlektheid van het blad en vergeling van de nog gedeeltelijk groene bladgedeelten. De vergeling beperkt zich dus niet uitsluitend tot de hoofdnerven en hun omgeving. Bij uit zaad besmette planten hebben de eerste blaadjes veelal reeds duidelijke symptomen: de hoofdnerven krommen zich en de bladrand is onregelmatiger van vorm dan bij gezonde planten. Bij verschillende

[1] Aangenomen voor publikatie 8 december 1958.

[2] Gedetacheerd bij het Proefstation voor de Groenteteelt in de Volle Grond in Nederland, Alkmaar.

slarassen (bv. Attractie) treedt bovendien necrose op. Planten, die in een ouder stadium besmet zijn, vertonen vaak een eenzijdige groeiremming, waardoor scheve kroppen ontstaan. Bladverkleuringen zijn hier vaak het meest opvallend aan de bladranden. Bij zaadplanten overheerst doorgaans het mozaïekbeeld van het blad.

LITERATUUROVERZICHT

In 1934 werd in Amerika het eerst van „big vein" melding gemaakt door JAGGER & CHANDLER, die het verschijnsel reeds sinds 1922 kenden. Zij veronderstelden, dat een grondvirus het ziektebeeld opriep, hoewel ze ook melding maken van het voorkomen van de schimmel *Olpidium* in wortels van zieke planten.

De gedachte, dat bobbelblad door een grondvirus zou worden veroorzaakt, heeft lange tijd bestaan. Door proeven kwam aan het licht, dat bladeren van zieke planten geen smetstof bevatten (RAWLINS & TOMPKINS, 1936). Alleen met wortels, perssap van wortels, of besmette grond gaat de ziekte over en wel uitsluitend indien de wortels besmet worden (ALLEN, 1948). Nematoden (ALLEN, 1948) noch bladluizen (PRYOR, 1946) spelen bij de besmetting een rol. De smetstof passeert wel een filter met een poriewijdte van 40 μ maar niet een met poriewijdte van 14 μ (GROGAN et al., 1957).

Zieke planten zijn te genezen door de wortels gedurende 10 minuten onder te dompelen in oplossingen van 5 °/$_{oo}$ NaOCL of 1 °/$_{oo}$ $HgCL_2$ of 1 °/$_{oo}$ oplossing van Semezan (GROGAN et al., 1957). Al deze gegevens waren voor GROGAN et al. aanleiding om de invloed van *Olpidium brassicae* (WOR.) DANG. op het voorkomen van de ziekte na te gaan. Het bleek hun, dat het ziekte-verwekkende agens uitsluitend in de buitenste laag van de wortels voorkwam, daar het centrale deel van de hoofdwortels niet infectieus was. De haarwortels en de buitenste cellaag van de grotere wortels van zieke planten bleken zwaar besmet te zijn met sporangia van *Olpidium brassicae*. Gezonde zaailingen konden besmet worden door ze in een bak met water te plaatsen waarin aan de andere kant een afgespoelde wortel van een zieke plant lag. Besmetting zou plaats vinden door de zwermsporen van deze obligate parasiet. Door deze proeven maakten GROGAN et al. het zeer aannemelijk dat *Olpidium brassicae* de ziekteverwekker is. Dit organisme zou in de wortels stoffen produceren, die de beschreven afwijkingen in de bladeren oproepen. Het is bekend, dat kleine hoeveelheden natriumchloraat bij sla een oplichten van de nerven en een kroezen van het blad veroorzaken (DEN BOER, 1958). Het is zeer wel mogelijk dat andere stoffen dit eveneens kunnen.

GROGAN et al. citeren SAMPSON (1939), die de volgende genera vatbaar noemt voor de schimmel: *Brassica*, *Capsella*, *Thlaspi*, *Linum*, *Plantago*, *Veronica*, *Limnosella*, *Solanum*, *Avena*, *Triticum*, *Poa*, *Agrostis*, *Festuca* en *Lolium*. Deze lijst is zeker niet volledig. STALDER & SCHUETZ (1957) vermelden nl. het voorkomen van *Olpidium* op *Erica* in Zwitserland. Het is dus een zeer polyfage parasiet.

VERSPREIDING

Behalve in U.S.A. komt de ziekte ook voor in Nieuw-Zeeland (FRY, 1952), Duitsland (BREMER, 1956) en Engeland (TOMLINSON & SMITH, 1958). In Amerika (THOMPSON & DOOLITTLE, 1942) en in Engeland wordt bobbelblad eveneens in

kassen waargenomen, ofschoon het volgens Amerikaanse onderzoekers vooral bij lagere temperaturen optreedt (volgens THOMPSON & DOOLITTLE (1942): 6–16 °C; PRYOR (1944) noemt echter hoger optima) en op vrij zware, natte gronden (JAGGER & CHANDLER, 1934; PRYOR, 1944) zou overheersen.

EIGEN WAARNEMINGEN

S. TOLSMA van het Rijkstuinbouwconsulentschap Zwolle en schrijver namen in het voorjaar van 1958 het verschijnsel in vrij ernstige mate waar in Zwollerkerspel. Bij gezonde slaplantjes in de kas kon het ziektebeeld met behulp van besmette grond worden opgeroepen, terwijl sporangia van *Olpidium* in de wortels werden aangetroffen. Het verschijnsel werd inmiddels geconstateerd op verscheidene plaatsen, verspreid over het hele land. Bovendien werd het in de Beemster bij andijvie aangetroffen.

SUMMARY

In The Netherlands symptoms of big vein were found in lettuce and endive (*Cichorium endivia* L.). In the roots of these plants sporangia of *Olpidium* occurred. In the glasshouse healthy lettuce plants showed symptoms when planted in infected soil.

LITERATUUR

ALLEN, M. W., – 1948. Relation of soil fumigation, nematodes and inoculation technique to big vein disease of lettuce. Phytopath. 38: 612–627.

BOER, W. DEN, – 1958. Beschadiging door natriumchloraat. T.Pl.ziekten 64: 144–149.

BREMER, H., – 1956. 31. Dtsche Pfl.-Sch.-Tagung der Biol. Bundesanst. Land- u. Frostwirtsch. Kassel, 10–14 okt. 1955. Mitt. Biol. Zent. Anst. Berl. 85.

FRY, P. R., – 1952. Note on occurrence of a tobacco-necrosis virus in roots of lettuce showing big-vein. N.Z.J. Sci. Tech. Sect. A. 34: 224–225.

GROGAN, R. G., F. W. ZINK, W. B. HEWITT & K. A. KIMBLE, – 1957. Some studies on the nature of the cause of big vein of lettuce. Abstr. Phytopath. 47: 522.

GROGAN, R. G., F. W. ZINK, W. B. HEWITT & K. A. KIMBLE, – 1958. The association of Olpidium with the big-vein disease of lettuce. Phytopath. 48: 292–297.

JAGGER, I. C. & N. CHANDLER, – 1934. Big vein, a disease of lettuce. Phytopath. 24: 1253–1256.

PRYOR, D. E., – 1944. The big vein disease of lettuce in relation to soil moisture. J.agr. Res. 68: 1–9.

PRYOR, D. E., – 1946. Exploratory experiments with the big-vein disease of lettuce. Phytopath. 34: 264–272.

SAMPSON, K., – 1939. Olpidium brassicae (Wor.) Dang. and its connection with Asterocystis radicis de Wildeman. Brit. myc. Soc. Trans. 23: 199–205.

STALDER, L. & F. SCHUETZ, – 1957. Untersuchungen über die kausalen Zusammenhänge des Erikawurzelsterbens. Phytopath. Z. 30: 117–148.

THOMPSON, R. C. & S. P. DOOLITTLE, – 1942. Influence of temperature on the expression of big-vein symptoms in lettuce. Phytopath. 32: 542–544.

TOMLINSON, J. A. & B. R. SMITH, – 1958. Big vein disease of lettuce in Britain. Pl. Path. 7: 19–22.

FIG. 1. Bobbelblad bij jonge sla, dat zich openbaart als brede gele banden langs de grotere nerven.

Big vein symptoms in leaves of young lettuce plants.

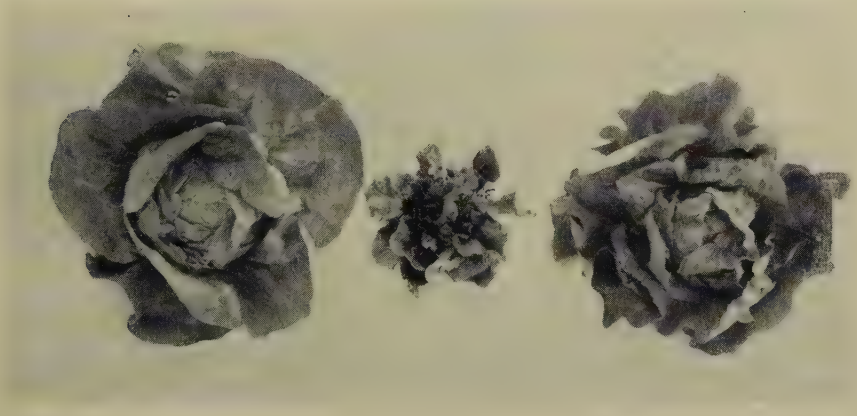


FIG. 2. Links gezonde sla; midden mozaïekzieke slaplant, die sterk achterblijft in groei; rechts bobbelbladzieke slaplant met sterk gekroesde bladeren. Op enkele bladgedeelten zijn de gele banden langs de nerven zichtbaar.

Left healthy lettuce plant; centre mosaic diseased plant and right big vein plant showing crumpled leaves.

T. Pl.ziekten 65 (1959): 27–32.

THE DETERMINATION OF RESIDUES OF ZINC ETHYLENE BISDITHIOCARBAMATE[1]

Met een samenvatting:
De bepaling van residu's van zinkethyleenbisdithiocarbamaat

BY

M. C. KERSSEN and P. RIEPMA
Instituut voor Plantenziektenkundig Onderzoek, Wageningen

INTRODUCTION

It may be assumed that the effective control of plant diseases is related to the amount of chemical retained by the plant, and the distribution and persistence of the chemical.

Due to losses during spraying, to the properties of the leaves of the plants (bouncing off or running off of the droplets) and to weather conditions the amount retained will be mostly less than the amount applied. The distribution of the chemical depends on the volume applied and the droplet size. The persistence largely depends on the weather conditions after the application.

To establish the residual amount of active substance on the plants analytical methods have to be used. If a general view of the residue and the distribution of the spray in field crops is desired, many samples have to be taken, because of irregularities in growth, spraying etc. This requires the availability of rapid and simple analytical methods.

As long as inorganic compounds are used it is easy to find simple methods because organic reagents are available for a spectrophotometric determination of metals (SNELL & SNELL, 1949; MORRISON & FREISER, 1957). The detection of organic compounds is more difficult unless these are already used for the determination of traces of metals. In the latter case modifications of the original method have to be introduced. This has to be done to achieve a simple method to determine residues of dithiocarbamates.

CLARKE et al. (1951) determined residual amounts of dithiocarbamates by leading CS_2, a breakdown product of these pesticides, into a solution of triethanolamine, diethylamine and copperacetate in alcohol to form the copper salt of diethyldithiocarbamic acid. The colour intensity of this salt, measured spectrophotometrically, may be related to the amount of residue of the dithiocarbamate. However, this method requires an apparatus, which limits the number of samples that can be determined. Therefore it seemed more appropriate to change the original method of MCFARLANE (1932), using diethyldithiocarbamate as a reagent to determine traces of copper. When an aqueous solution of sodium diethyldithiocarbamate is added to a solution containing copper the copper salt of diethyldithiocarbamic acid, which has a golden brown colour, is formed.

[1] Accepted for publication 1 December, 1958.

METHOD OF ANALYSIS

Reagents:

Copper sulfate: 1875 mg $CuSO_4.5H_2O$ diluted to 4000 ml.

Sodium hydroxide: 20 g NaOH diluted to 1000 ml.

Sodium pyrophosphate: 30 g $Na_4P_2O_7.10H_2O$ diluted to 1000 ml.

These reagents were added in various volumes to the test solution to investigate the most suitable conditions for the determination of dithiocarbamates, especially of zinc ethylene bisdithiocarbamate.

EXPERIMENTAL RESULTS

From preliminary experiments it was evident that the maximum optical density of the copper salt of ethylene bisdithiocarbamic acid occurred at a wave length of 4340 Å, the same as that for the copper salt of diethyldithiocarbamic acid.

It was observed that the alcalinity of the solution greatly influences its optical density (fig. 1). Excess of the amount of NaOH in the test solution reduces the

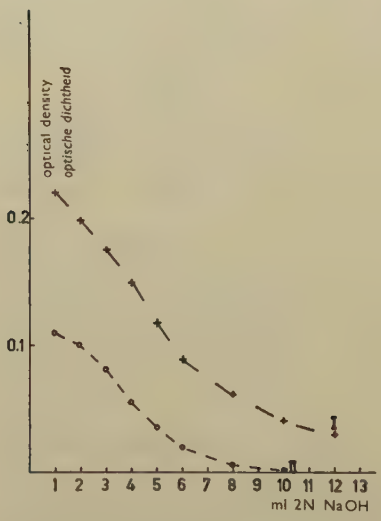


FIG. 1. The relation between the alcalinity of the solution, expressed in ml 2 n NaOH and the optical density of the copper salt of ethylene bisdithiocarbamic acid. The volume of the test solution was 50 ml. This solution contained next to increasing volumes 2 n NaOH, 30 mg sodium pyrophosphate and:

I. 1000 μg Cu and 2000 μg zineb (commercial product);

II. 1000 μg Cu and 1000 μg zineb.

Het verband tussen de alkaliteit van de oplossing, uitgedrukt in ml 2 n NaOH en de optische dichtheid van het koperzout van ethyleenbisdithiocarbaminezuur. Het volume van de oplossing was 50 ml. Deze oplossing bevatte behalve toenemende volumina 2n NaOH, 30 mg natriumpyrofosfaat en

I. 1000 μg Cu en 2000 μg zineb (handelsprodukt)

II. 1000 μg Cu en 1000 μg zineb.

optical density of the copper salt of ethylene bisdithiocarbamic acid significantly. BEER's law was valid only when the amount of copper reagent in the test solution did not exceed a certain threshold. The cause is the low solubility of the copper salt of the dithiocarbamic acid. The upper limit of the amount of copper, investigated with the aid of sodium diethyldithiocarbamate, was shown to be 250 μg in 10 ml solution.

The suspension may be stabilized by adding a drop of Teepol to the solution.

Next to the active substance commercial products contain contaminations, which may interfere with the spectrophotometric determination of the dithiocarbamates. According to MCFARLANE (1932) especially ions of iron and zinc may reduce the optical density of the copper salts of the dithiocarbamic acids.

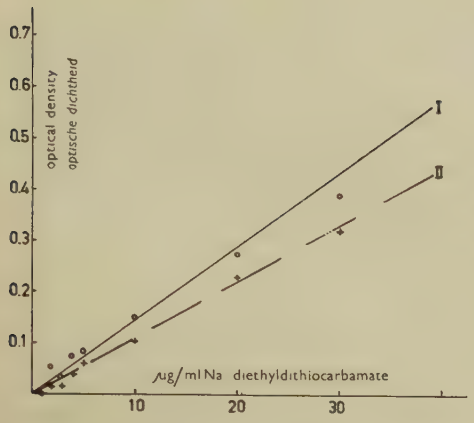


FIG. 2.

The effect of sodium pyrophosphate on the optical density of the copper salt of diethyldithiocarbamic acid in the presence of ferric ions.

I. Test solution with $Na_4P_7O_2.10H_2O$;
II. Test solution without $Na_4P_7O_2.10H_2O$.

De invloed van natriumpyrofosfaat op de optische dichtheid van het koperzout van diethyldithiocarbaminezuur in aanwezigheid van ferri-ionen.

I. oplossing met $Na_4P_2O_7.10H_2O$;
II. oplossing zonder $Na_4P_2O_7.10H_2O$.

Addition of sodium pyrophosphate abolishes the interference of these ions (fig. 2). The action of sodium pyrophosphate has to be ascribed to the precipitation of the insoluble $Fe_4(P_2O_7)_3$, whereas the reactivity of $Cu_2P_2O_7$ is not affected. Presence of 345 µg Fe (salt $FeCl_3$) in 20 ml test solution diminishes the optical density of the copper salt of diethyldithiocarbamic acid if the sodium pyrophosphate is left out of the test solution. The regressions between the optical density and the concentration of sodium diethyldithiocarbamate in the presence and absence of sodium pyrophosphate were 0.0126 and 0.0111, respectively.

The most suitable composition of the test solution was found to be 30 mg $Na_4P_2O_7.10H_2O$, 2 ml 0.5 n NaOH and 375 µg Cu in a volume of 16 ml. Deviations of BEER's law may occur if the concentration of zineb exceeds 500 µg in this volume (fig. 3).

Once established the right composition of the test solution experiments con-

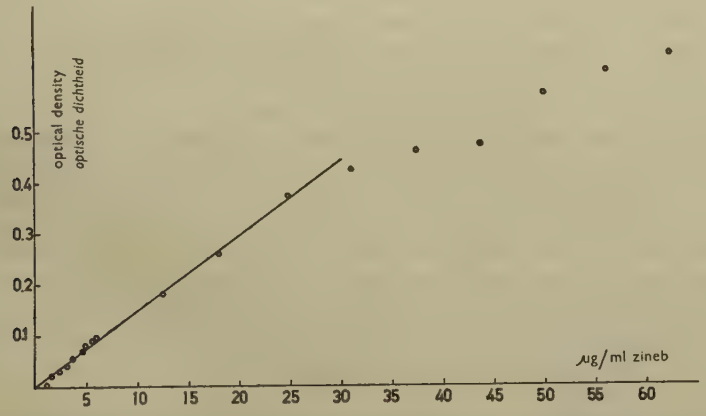


FIG. 3. The relation between the concentration of zineb and the optical density of its copper salt, after the establishment of the right composition of the test solution.

De samenhang tussen de concentratie van zineb en de optische dichtheid van het koperzout nadat de juiste samenstelling der oplossing was vastgesteld.

cerning the possibility to recover known amounts of residue from glass plates and leaves of plants were carried out. The results of one experiment are presented in table 1.

TABLE 1. The amount of zineb recovered from different surfaces in the course of time.
De hoeveelheid zineb, die na verloop van tijd op verschillende oppervlakken werd teruggevonden.

Surface *Oppervlak*	Amount of zineb applied in µg *Toegediende hoeveelheid zineb in µg*	Zineb recovered in µg *Teruggevonden zineb in µg* days after application *dagen na toediening*			
		0	6	13	20
Glass plates (about 20°C)	1628	1656 ± 78	1406 ± 13	1352 ± 104	1501 ± 130
Brassica	3256	3388 ± 88	2847 ± 380	1122 ± 272	1006 ± 260
Phaseolus	3256	3586 ± 210	2822 ± 110	1361 ± 176	1227 ± 185

The zineb residues, applied to the glass plates with a pipette, were left till dried and afterwards stored in the dark. After 0, 6, 13 and 20 days the residual amounts of zineb were determined. The results are presented in table 1. It is evident that the residues brought onto the glass plates may be recovered quantitatively, because no significant differences between applied and recovered amounts of zineb could be found if the residue was determined immediately after the application (0 days). The same holds true if a suspension of zineb is applied to the leaves of Brassica and Phaseolus with a pipette. Differences between applied and recovered amounts of residue have to be ascribed to the manner of application.

From the data it is evident that the residue of zineb on the glass plates, held in the dark at 20 °C, is not affected during 20 days. The keeping of residues of zineb on glass plates at other temperatures (0° and 30 °C) in the dark or at 20 °C in diffuse daylight during the same time did not affect the breakdown of this product.

However, if the residues of zineb, applied to the leaves of plants, are determined after different times of exposure to greenhouse conditions (mean temperature: 20 °C; solar radiation) it is observed that a steady decrease of the residue occurs.

Determination of the amount of residue of zineb was made by washing the glass plates and the leaves with two portions of 40 ml aq. dest. after adding three drops of Teepol. To recover the zineb quantitatively off the glass plates it was necessary to wipe these with a rubber. Omitting the wiping resulted in the sticking of a part of the residue to the glass plates (table 2). Also the leaves have to be cleaned thoroughly.

A radiation energy on three successive days of 505, 543 and 603 cal/cm^2 could not reduce the original amount of zineb residue sprayed on potato foliage. The values expressed in those of the original amount were found to be 100.2 %, 118 % and 89 %.

TABLE 2. The effect of the wiping off of glass plates on the recovery of zineb residues applied.
De invloed van het afvegen van glasplaten op het terugvinden van residu's van daarop aangebrachte zineb.

Number of days after application *Aantal dagen na toepassing*	Amount of zineb applied in µg *Hoeveelheid toegediende zineb in µg*	Recovery of zineb in µg *Teruggevonden hoeveelheid zineb in µg*	
		80 ml water used for washing *afgespoeld met 80 ml water*	after washing wiped off with 40 ml water *na spoelen afgeveegd met 40 ml water*
0	1628	1694 ± 78	82.5 ± 6.5
2	1628	1612 ± 41	490 ± 30
7	1628	1227 ± 42	157.6 ± 9.7

On a later date 12.0 mm rain reduced the original amount of zineb deposit with 68 % over the same period. These findings indicate that rainfall is the major agent reducing the residue of zineb. Even 4.5 mm of rainfall may reduce the original deposit of zineb with 67 %. It may be assumed that the reduction of zineb residue not only depends on the amount of rainfall, but also on its intensity.

DISCUSSION AND SUMMARY

The method described is meant to determine the amount of residue of zineb upon the surface of leaves and glass plates. The total amount of residue of this product cannot be determined this way if penetration into the leaves occurs. In that case the methods described by CLARKE et al. (1951) may prove more suitable, because it recovers the breakdown products of zineb and other dithiocarbamates during the ashing of the leaf tissues. But even then large errors may be observed as is evident from the data presented by the authors, concerning the recovery of disodium ethylene bisdithiocarbamate. Using the micromethod they could only recover 79 % of the amount supplied. If disodium ethylene bisdithiocarbamate was applied to potato foliage the authors recovered about 80 %. By comparing their data and ours, as presented in table 1, we found our method to be suitable for the recovery of zineb residue on surfaces.

The stability of zineb under laboratory conditions is in accordance with their observation. However, if zineb is applied to potatoes in the field, the product disappears rapidly, due to the weather conditions (rainfall, dew and solar radiation). From field observations it may be concluded that solar radiation plays a minor role in the loss of activity of zineb in contrast to rainfall.

SAMENVATTING

Een methode wordt beschreven volgens welke op eenvoudige wijze zink-ethyleenbisdithiocarbamaat (zineb) kan worden bepaald op glasplaten en bladeren. Deze methode is geschikt om de hoeveelheid zineb te bepalen, die op bladeren en glasplaten terecht komt bij een bespuiting, alsmede ter vaststelling

van de persistentie van het produkt onder invloed van uitwendige omstandigheden, voorzover het produkt niet in de bladeren binnendringt. De meest geschikte oplossing, waarin zineb kan worden aangetoond, bleek de volgende hoeveelheden stoffen te moeten bevatten op een totaal volume van 16 ml: 30 mg $Na_4P_2O_2.10H_2O$, 2 ml 0,5 n NaOH en 375 µg Cu. De wet van BEER geldt, zolang de hoeveelheid zineb in deze oplossing niet stijgt boven 500 µg. Toevoeging van Teepol is noodzakelijk om de suspensie van het koperzout van ethyleenbisdithiocarbaminezuur te stabiliseren. Toevoeging van natriumpyrofosfaat aan de oplossing dient om te voorkomen dat de gevoeligheid van de beschreven methode onder invloed van ijzer- en zinkionen vermindert.

Uit proeven, waarbij bekende hoeveelheden zineb op glasplaten en bladeren werden aangebracht, blijkt dat de toegediende hoeveelheden kwantitatief kunnen worden teruggevonden. De behandelde oppervlakken dienen zorgvuldig te worden afgewassen. Blootstelling van het residu aan verschillende temperaturen of aan diffuus daglicht heeft geen achteruitgang van de hoeveelheid actieve stof op korte termijn (20 dagen) tengevolge.

REFERENCES

SNELL, F. D. & C. T. SNELL, – 1949. Colorimetric methods of analysis.

MORRISON, G. H. & H. FREISER, – 1957. Solvent extraction in analytical chemistry.

MCFARLANE, W. D., – 1932. Application of the sodium diethyldithiocarbamate reaction to the microcolorimetric determination of copper in organic substances. Biochem. J. 26: 1022–1033.

CLARKE, D. G., H. BAUM, E. L. STANLEY & W. F. HESTER, – 1951. Determination of dithiocarbamates. Anal. Chem. 23: 1842–1846.

In de provincie Noordholland werd in de tweede helft van augustus 1958 op percelen winterpeen geconstateerd, dat het loof voortijdig afstierf. Verantwoordelijk voor dit verschijnsel waren wantsen, die in zeer grote aantallen op het loof werden aangetroffen. Op 3 september werd in de omgeving van Alkmaar een aantal van deze wantsen verzameld. R. H. COBBEN determineerde deze als *Orthops basalis* COSTA (20 exemplaren) en *Orthops campestris* L. (1 exemplaar).

In een perceel bewaarpeen (Flakkeese) geteeld op terrein van het Proefstation voor de Groenteteelt in de Volle Grond, Alkmaar, werd bij het rooien in november 1958 waargenomen, dat ongeveer 10 % van de wortels waren doorboord door larven van *Hepialus lupulina* L. (Hepialidae). De grootte van de rups varieerde van een tot ruim vier centimeter. De determinatie werd verricht door G. HOUTMAN en bevestigd door B. J. LEMPKE.

H. A. VAN HOOF

VERENIGINGSNIEUWS

Op 20 november 1958 werd de jaarlijkse herfstvergadering gehouden, die werd bijgewoond door 70 leden.

Prof. Dr. L. C. P. KERLING vertelde over de indrukken die zij heeft opgedaan tijdens haar studiereis door de U.S.A. Zij begon met een waarschuwend geluid te laten horen. Klimaatsverschillen en andere oorzaken maken het zeer gewenst de in de Amerikaanse literatuur vermelde gegevens eerst op hun waarde onder Nederlandse omstandigheden te toetsen, alvorens zij hier in de praktijk worden gebracht. Zij besprak daarna enkele facetten van het onderzoek dat men in de U.S.A. verricht over dwergsteenbrand bij tarwe, roest bij granen en *Diplodia* bij mais, om vervolgens iets uitvoeriger stil te staan bij de iepeziekte.

Dr. L. BOS sprak over nieuwe resultaten van het onderzoek over virusziekten van vlinderbloemigen. Hij begon met een korte historische schets van de ontwikkeling van het onderzoek sinds ongeveer 1920. Thans vormen de vlinderbloemigen naast Solanaceeën en Rosaceeën de belangrijkste en grootste groep van waardplanten van plantevirussen. Spreker schetste het sinds vorig jaar op het Instituut voor Plantenziektenkundig Onderzoek te Wageningen op gang zijnde systematisch opgezette onderzoek. In de eerste plaats wordt gestreefd naar een inventarisatie van de in Nederland optredende virussen en naar het verkrijgen van een beeld van hun economische betekenis. De bij dit onderzoek geïsoleerde en nog te isoleren virussen worden bestudeerd, wat betreft hun waardplanten en symptomen daarin, hun wijze van overdracht, de fysische eigenschappen van de virussen zelf, de serologie en de met de elektronenmicroscoop waarneembare morfologische eigenschappen. Het doel hiervan is de virussen zo goed mogelijk te omschrijven, teneinde in de toekomst een snelle en juiste diagnose mogelijk te maken. De betekenis van de elektronenmicroscoop hiervoor werd nader toegelicht.

Tot dusver zijn in Nederland reeds een dertiental virussen van vlinderbloemigen aangetoond. Van het voorkomen hiervan bij de verschillende vlinderbloemige gewassen werd een overzicht gegeven. Epidemiologisch is van grote betekenis de overwintering van de virussen van éénjarige gewassen, zoals erwten en bonen, in overjarige gewassen, zoals luzerne en klavers en in onkruiden.

In het bijzonder werd aandacht geschonken aan enkele voor Nederland nieuwe ziekten. Het nerfmozaïek van rode klaver en de „gedrongen-topziekte" van erwt hebben dezelfde verwekker. De geelnervigheid van luzerne blijkt te worden veroorzaakt door het topvergelingsvirus van erwt. Vroege verbruining van erwt treedt op in vrijwel alle erwteteeltgebieden van ons land en wordt veroorzaakt door een nog niet geheel geïdentificeerd virus, dat via de grond op een volgend gewas erwten overgaat. De heksenbezemziekte van witte klaver en andere klaversoorten komt reeds lang in ons land incidenteel voor, maar blijkt onder bepaalde omstandigheden epidemisch te kunnen worden.

De Secretaris

BOEKBESPREKINGEN

CARL STAPP. Pflanzenpathogene Bakterien. Eine Einführung mit Hinweisen auf einschlägige bakteriologische und serologische Arbeitsmethoden. 259 blz. met 100 fig. Paul Parey, Berlin, 1958. Prijs D.M. 32,—.

Dit boek zal voor hen, die aan een bacteriologische studie willen beginnen, een grote concurrent worden van DOWSON's „Plant diseases due to bacteria". Zij zullen waarschijnlijk het eerst naar STAPP's boek grijpen, daar de bacteriologische techniek en methode van diagnostiek er zeer uitvoerig, soms te uitvoerig in worden beschreven.

In zijn voorwoord schrijft STAPP, dat hij door het gebruik van cliché's van zijn bijdrage in SORAUER, Handbuch der Pflanzenkrankheiten, Band II, de prijs van dit boek laag heeft kunnen houden. Hij zou deze echter nog verder hebben kunnen verminderen als o.a. de beschrijving van het maken van wattenproppen, steriliseren, platen gieten en enten er uit was gelaten. Analysten en studenten leren dergelijke dingen gewoonlijk in de praktijk en niet uit boeken. Nog beter ware het geweest deze overbodige beschrijvingen te vervangen door bv. een vermelding van een *aantal* modificaties van de Gramkleuring en *enige* methoden voor ciliënkleuring. Waarom wordt bij deze laatste alleen de zilvermethode genoemd en niet de snellere methode van GRAY, hoewel die misschien wat minder duidelijke resultaten geeft? Ook de negatieve kleuring met congorood en een sporenkleuring worden niet genoemd.

Wel gaat hij zeer uitvoerig in op de serologische identificatie. Ook vinden wij er een aantal recepten voor gewone en selectieve voedingsbodems en recepten voor identificatiereacties.

Zoals boven werd vermeld, zijn in het bijzondere deel meest cliché's van SORAUER gebruikt. Een keuze van 24 voor Europa belangrijke bacteriën wordt er uitvoerig in besproken, nl. ziektebeeld, infectiemogelijkheid, resistentie, waardplanten, geografische verspreiding en bestrijdingsmogelijkheden. Daarnaast heeft de schrijver in deze uitgave meer dan in het boek van SORAUER de gelegenheid om zijn eigen visie op de naamgeving nog eens op schrift te stellen. Hij gaat niet met DOWSON mee *Agrobacterium tumefaciens Erwinia tumefaciens* te noemen. Uitvoerig worden de redenen vermeld waarom *Erwinia carotovora* en *Erwinia atroseptica* niet als twee verschillende soorten beschouwd moeten worden, maar als één soort, te weten *Erwinia phytophthora*, welke naam in BERGEY (1957) niet meer wordt genoemd.

De literatuurlijsten zijn, vergeleken bij SORAUER, omgewerkt en bijgehouden.

Over het algemeen zal dit boek, ook al zijn er bladzijden in die het licht zelden zullen zien, naast DOWSON veel ter hand worden genomen. MAAS G.

M. KLINKOWSKI, – Pflanzliche Virologie. II. Die Virosen des europäischen Raumes. VIII en 393 blz., 251 fig. Akademie-Verlag, Berlin, 1958. Prijs D.M. 48,—.

Het eerste deel van dit werk werd in de vorige jaargang van dit tijdschrift (blz. 338) besproken. In het onderhavige deel zijn de in Europa bekende virusziekten samengevat. Ook thans hebben een aantal medewerkers hun bijdragen geleverd, te weten: O. BODE (aardappel en tabak), M. KLINKOWSKI (*Beta*- en *Brassica*-soorten, groentegewassen, sierplanten, enige uiteenlopende gewassen (o.m. enkele gramineeën en boomsoorten) en enige onkruidsoorten), L. QUANTZ (leguminosen), H. A. USCHDRAWEIT (tomaat) en G. BAUMANN (pit- en steenvruchten en bessen). In een door K. SCHMELZER bewerkt hoofdstuk zijn lijsten opgenomen, waarin

men de wetenschappelijke namen van toets- en waardplanten en de daarbij behorende Duitse en Engelse namen kan opzoeken. Ook kan men beginnen bij de Duitse, respectievelijk Engelse naam van een plant om de wetenschappelijke naam te vinden. Voorts heeft J. Völk een lijst bewerkt van de in het boek genoemde bladluissoorten en hun synoniemen. Met een uitvoerig register van 52 blz. wordt het boek besloten.

In dit werk wordt bij het vermelden van bijzonderheden van de besproken virusziekten nimmer naar de desbetreffende oorspronkelijke literatuur verwezen. De schrijvers zijn zich, zoals uit het voorwoord blijkt, bewust geweest van de bezwaren, die hier aan kleven. Maar zij stelden zich ten doel een boek te scheppen, dat vooral door practici, zoals voorlichters en geïnteresseerde boeren en tuinders, zal worden gebruikt. Het werk wil dus een snelle oriëntatie over een bepaalde ziekte mogelijk maken. Verder kan men – tot op zekere hoogte – aan de hand van de beschrijving en de vele, meestal fraaie afbeeldingen een diagnose stellen, al wordt in de inleiding terecht gewaarschuwd, dat „die makroskopische Diagnose auch hier nicht des Experimentes entbehren sollte, da sie erst dann volle Beweiskraft erlangt".

Juist omdat het boek in de eerste plaats voor practici is bedoeld, is het jammer dat in de inleiding niet wordt uiteengezet, dat de in het boek gevolgde onderscheiding van bepaalde virusziekten subjectief is. Vroeger of later kan immers blijken, dat het weergegevene van de werkelijkheid afwijkt. Zo komt bv. de verwarring, die er nog ten aanzien van de aardappel S-virusziekte, het rolmozaïek van de aardappel en het parakrinkelmozaïek bestaat, niet tot uiting en is hier een indeling gemaakt, die niet iedere specialist zal bevredigen. Ook is het de vraag of men op grond van de beschikbare gegevens de in Europa beschreven vergelingsziekte van de aster en het desbetreffende virus mag vereenzelvigen met de in Amerika bij aster en andere gewassen voorkomende ziekten van dit type en de erbij behorende virussen. In deze gevallen zal nog veel, internationaal gecoördineerd, onderzoek moeten geschieden, alvorens een uitspraak kan worden gedaan.

Ondanks de hier aangeduide bezwaren, die tot enige voorzichtigheid bij het gebruik nopen, geeft het boek, tezamen met het eerste deel, een mooie weergave van de huidige stand van onze kennis der algemene en bijzondere plantevirologie. v. d. w.

Symposium: Insect and foodplant. Under the auspices of the „Comité Européen de Zoologie Agricole" (C.E.Z.A.) and the Agricultural University, Wageningen. Proceedings, Wageningen, May 27–29, 1957. 108 blz. Prijs f 5,—.

Deze publikatie bevat de inhoud van een serie van 14 voordrachten, welke zijn gehouden over het verband tussen fytofage insekten en hun voedselplanten. De eerste tien voordrachten zijn tevens gepubliceerd in Entomologia experimentalis et applicata 1 (1958).

Niet alle voordrachten gaan over het onderwerp, dat door de algemene titel wordt aangeduid; twee behandelen aaltjes, één gaat over een zuiver plantefysiologisch onderwerp (het sap in de zeefvaten) en één handelt over een niet fytofaag insekt, de vlieg *Calliphora erythrocephala*. Het is echter duidelijk, dat al deze onderwerpen toch met elkaar verband houden en dat het doel is om een nader inzicht te verkrijgen in de relatie tussen insekt en voedselplant.

De verschillende auteurs behandelen heel verschillende aspecten van het probleem, zoals o.a. de resistentie van de voedselplant, de voedselkeuze van het insekt, de invloed van de voedselplant op het vermeerderingsvermogen van het insekt. Het blijkt, dat er veelal een nauwe wisselwerking tussen het insekt en zijn voedselplant bestaat. Vanzelfsprekend zijn de onderzoekingen in de eerste plaats verricht aan economisch belangrijke insekten; zo zijn er vijf aan de Colorado-kever gewijd.

Deze publikatie brengt ons weer een stap dichter tot het begrijpen van één van de belangrijkste en tevens boeiendste problemen waarmee ieder, die de toegepaste entomologie beoefent, te maken heeft. E.

Nederlandse namen voor geleedpotige dieren, schadelijk voor de voornaamste land- en tuinbouwgewassen. 42 blz. Hoofdcommissie voor de Normalisatie in Nederland (HCNN), NEN 3167, augustus 1958, U.D.C. 632.7:633/635:001.4. Prijs f 5,—.

Een door de Nederlandse Planteziektenkundige Vereniging ingestelde commissie heeft een lijst samengesteld van Nederlandse namen van geleedpotige dieren, die schadelijk zijn voor

onze voornaamste land- en tuinbouwgewassen. De commissieleden en hun adviseurs mogen met voldoening op het omvangrijke werk terugzien en ze hebben allen, die van de desbetreffende namen gebruik maken, een grote dienst bewezen.

De namen van de desbetreffende dieren en hun waardplanten zijn zodanig gerangschikt, dat ze zonder moeite kunnen worden teruggevonden. Vrijwel alle namen zijn karakteristiek en juist om deze reden zullen ze, voor zover dat nog niet het geval is, ongetwijfeld spoedig inburgeren.

Het is jammer, dat de zeer polyfage vroege akkertrips bij vele landbouwgewassen, bv. bij granen en grassen, niet als plaag vermeld is. Op blz. 18 had men achter de erwtekever „in aangevoerde partijen" beter kunnen weglaten, daar in het zuiden van ons land meermalen te velde tot stand gekomen infectie werd geconstateerd; dit wijst er op, dat overwintering van de erwtekever ook in Nederland mogelijk is.

Het is te hopen, dat de hoge prijs van het overigens keurig verzorgde boekwerkje geen belemmering zal vormen voor een algemeen gebruik. C. J. H. FRANSSEN

ERRATA

In het artikel door T. H. THUNG & J. DIJKSTRA: Binding van virusremstoffen aan kleimineralen, T. Pl.ziekten 64 (1958): 441–418, komen enkele storende drukfouten voor:

blz. 411: 15e regel van onderen ... 4 minuten ... lees ... 5 minuten ...
blz. 416: 10e regel van onderen ... dan door het TNV ... lees ... dan het TNV ...
blz. 417: 18e regel van boven ... 0,8 ml ... lees ... 9,8 ml ...
blz. 417: 22e en 23e regel van onderen ... 0.5 g H-illite or 0.5 g montmorillonite ... lees ... 0.5 g H-illite or 0.5 g montmorillonite on 10 ml inoculum ...

In het artikel door P. K. SCHENK: De infectiecyclus van Urocystis gladiolicola op gladiolen, T. Pl.ziekten 64 (1958): 476, tabel 1, 9e kolom: lees 10,3 in plaats van 13,3. *Page 476, table 1, 9th column: read 10,3 in stead of 13,3.*